

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1932

THÈSE

182
N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Joseph Amédée GUY

Né le 20 mars 1882, à Bonneville (Haute Savoie)

RECHERCHES

SUR LES

LIPASES DU SÉRUM ET DES ORGANES

DANS LA

TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE

DU COBAYE

Président : M. LEMIERRE, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1932

281

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1932

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Joseph Amédée GUY

Né le 20 mars 1882, à Bonneville (Haute Savoie)

RECHERCHES

SUR LES

LIPASES DU SÉRUM ET DES ORGANES

DANS LA

TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE

DU COBAYE

Président : M. LEMIERRE, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1932

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médicale-chirurgicale et chirurgie expérimentale	GRÉGOIRE.
Physiologie	BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CLERC.
Pathologie chirurgicale	LENORMANT.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et Médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNE-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	M. VILLARET.
Clinique médicale	CARNOT.
	BEZANÇON.
	ACHARD.
	Marcel LABBÉ
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale	CUNÉO.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD
Professeurs sans chaire	MAUCLAIRE et
	MULON.



II. — AGREGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE Neurologie et Psychiatrie.
 AUBERTIN . . . Pathologie médicale.
 BÉNARD (Henri Pathologie médicale.
 BROCC Pathologie chirurgicale.
 BRULÉ Pathologie médicale.
 BUSQUET . . . Pharmacologie.
 CADENAT . . . Pathologie chirurgicale.
 CATHALA . . . Pathologie médicale.
 CHABROL . . . Pathologie médicale.
 CHAILLEY-BERT . . . Physiologie.
 CHEVALLIER. Pathologie médicale.
 DOGNON . . . Physique.
 DONZELOT . . . Pathologie médicale.
 ECALLE . . . Obstétrique.
 FEY Urologie.
 GASTINEL . . . Bactériologie.
 GATELLIER . . . Pathologie chirurgicale.
 de GAUDART D'ALLAINES Pathologie chirurgicale.
 GIROUD . . . Histologie.
 HARVIER . . . Pathologie médicale.
 HAZARD . . . Pharmacologie.
 HOVELACQUE Anatomie.
 HUGUENIN. . . Anatomie pathologique.
 HUTINEL . . . Pathologie médicale.
 JOANNON . . . Hygiène.

MM.

LABBÉ (Henri). Chimie biologique.
 LAROCHE (Guy) Pathologie médicale.
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 LEVY-VALENSI. Neurologie et psychiatrie.
 LIAN. Pathologie médicale.
 N Histologie.
 MONDOR . . . Pathologie chirurgicale
 MOREAU . . . Pathologie médicale.
 MOULONGUET . . . Pathologie chirurgicale.
 MOURE Pathologie chirurgicale
 N Histologie.
 OBERLING . . . Anatomie pathologique.
 OLIVIER . . . Anatomie.
 PIEDELIEVRE Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 QUENU Pathologie chirurgicale.
 RICHET Fils . . Physiologie.
 SANNIÉ Chimie biologique.
 SÉZARY Dermatologie et syphiligraphie.
 VALLERY-RA-
 DOT (Pasteur). Pathologie médicale.
 VAUDESCAL . . Obstétrique.
 VELTER Ophtalmologie.
 VERNE Histologie.
 VIGNES Obstétrique.

III. — AGREGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

GUÉNIOT Obstétrique.
 LEQUEUX Obstétrique.
 LEROUX Anatomie pathologique.

MM.

NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
 REPTERER . . . Histologie.
 ZIMMERN . . . Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.		MM.	
ABRAMI . . .	Clinique médicale.	MATHIEU. . .	Clinique chirurgicale.
CHIRAY. . .	Clinique médicale.	MOCQUOT . .	Clinique chirurgicale.
DEBRE . . .	Clinique médicale.	PROUST . . .	Clinique chirurgicale.
DUVOIR. . .	Clinique médicale.	SCHWARTZ. .	Clinique chirurgicale.
BASSET. . .	Clinique chirurgicale.	LE LORIER . .	Clinique obstétricale.
CHEVASSU. .	Clinique chirurgicale.	LEVY-SOLAL.	Clinique obstétricale.
HEITZ-BOYER	Clinique chirurgicale.	METZGER. . .	Clinique obstétricale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, professeur sans chaire.	}	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du tra- vail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY		Stomatologie.
CHAILLEY-BERT, agrégé. . .		Éducation physique.
LEDoux-LEBARD.		Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ.		Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions mises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur LEMIERRE

Professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine
Médecin de l'Hôpital Bichat

*Respectueux hommage de mon très
affectueux attachement.*

INTRODUCTION

Dans la première partie de ce travail, après l'examen des principaux caractères des lipases, nous dirons le rôle qui leur est attribué dans la défense de l'organisme des mammifères contre l'infection tuberculeuse.

La seconde partie sera consacrée à l'étude détaillée de la technique expérimentale suivie dans nos recherches.

Les résultats obtenus seront exposés dans la troisième partie et en même temps confrontés avec ceux que différents auteurs ont déjà publiés sur le même sujet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PREMIÈRE PARTIE

Caractères et rôle des lipases chez les mammifères

CHAPITRE I

LES LIPASES

SOMMAIRE. — *Les matières grasses ; saponification chimique (Chevreul) ; saponification diastasique (Cl. Bernard). Les diverses lipases ; lipase pancréatique ; lipases des divers tissus et organes ; répartition du pouvoir lipasique dans l'organisme animal. Lipase du bacille de Koch.*

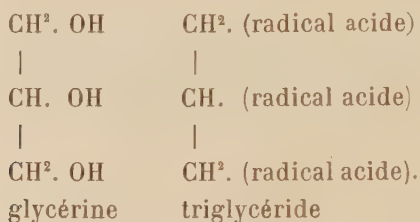
Les lipases, ainsi nommées par BOURQUELOT (1), sont des diastases dédoublant les graisses naturelles à la température ordinaire.

*
* *

Depuis les recherches classiques de CHEVREUL sur la décomposition des corps gras en savons et glycérine sous l'influence des alcalis et les synthèses opérées par

BERTHELOT en 1854, la constitution des corps gras naturels est parfaitement établie. Ce sont des mélanges de *triglycérides*, éthers triacides de la glycérine.

Ces triglycérides représentent de la glycérine dans laquelle chacun des trois oxhydriles alcooliques a été remplacé par le radical d'un acide gras.



Lorsque le remplacement ne porte que sur un ou deux oxhydriles, le corps obtenu est un *monoglycéride* ou un *diglycéride*.

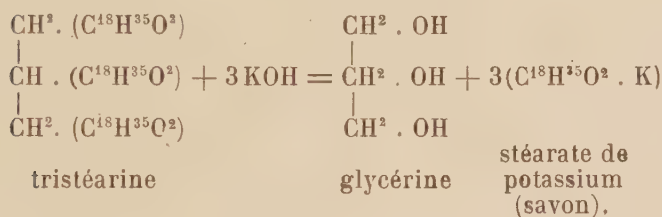
Ces radicaux acides peuvent être semblables ou différents. Dans les matières grasses naturelles, ils proviennent les uns d'acides gras de la série non saturée ($\text{C}^n\text{H}^{2n-2}\text{O}^2$) dont le plus fréquent est l'acide *oléique* ($\text{C}^{18}\text{H}^{34}\text{O}^2$) ; les autres, d'acides gras de la série saturée ($\text{C}^n\text{H}^{2n}\text{O}^2$) principalement des acides *palmitique* ($\text{C}^{16}\text{H}^{32}\text{O}^2$) et *stéarique* ($\text{C}^{18}\text{H}^{36}\text{O}^2$).

Ce sont les proportions relatives des triglycérides de ces trois acides (palmitique, stéarique et oléique) qui déterminent la consistance variable des divers corps gras animaux et végétaux, c'est-à-dire des huiles, des beurres et des graisses.

Ces matières grasses peuvent s'accumuler en quantité parfois considérable dans certaines régions de l'orga-

nisme : c'est le cas des graines grasses chez les végétaux, du tissu adipeux cellulaire sous-cutané ou péri-rénal chez les animaux ; ce sont alors des *graisses de réserve*. Il existe aussi une *graisse protoplasmique*, constituant normal de la cellule, et dont la quantité n'est modifiée ni par le jeûne ni par l'alimentation.

Par l'action des alcalis, les graisses sont dédoublées, comme tout éther-sel, en leurs deux constituants : l'acide gras qui, combiné à l'alcali, se sépare sous la forme d'un *savon* et la glycérine. C'est l'opération de la *saponification* :



Par extension, on appelle aussi saponification le dédoublement d'un triglycéride en ses deux générateurs, acide gras et glycérine, par simple hydrolyse, bien qu'il se forme ici un acide gras libre et non plus un savon. Un tel dédoublement est produit par l'eau à haute température ou, à la température ordinaire, par l'action des lipases. Celles-ci font donc partie du groupe des *hydrolases*, diastases produisant un dédoublement par fixation d'eau ; ce sont de beaucoup les plus nombreuses chez les êtres vivants.

C'est CLAUDE BERNARD (2) qui a signalé le premier, en 1849, l'hydrolyse des graisses par un processus

vital. Il avait observé qu'une graisse liquide, de l'huile, agitée avec du suc pancréatique frais, est instantanément émulsionnée et que cette émulsion est stable. De plus, ce mélange du suc pancréatique alcalin et d'une graisse neutre est primitivement alcalin, mais devient acide, s'il est conservé quelque temps, par suite du dédoublement de la graisse en glycérine et acides gras. CH. BERNARD attribuait cette double propriété à un ferment soluble élaboré par le pancréas. Nous savons aujourd'hui que l'émulsion des graisses est un phénomène physique, indépendant par conséquent de toute action fermentaire (3). Quant au dédoublement diastatique des matières grasses, les expériences de CL. BERNARD sont en elles-mêmes peu probantes. En effet on ne songeait pas encore à son époque à prendre les précautions nécessaires pour éliminer l'intervention microbienne ; néanmoins il avait deviné juste puisqu'on a par la suite isolé la lipase pancréatique.

Un peu plus tard, en 1854, BERTHELOT réalisa la synthèse des matières grasses par la méthode chimique d'*éthérification* de la glycérine. CL. BERNARD le pria de refaire sur ces glycérides synthétiques les expériences qu'il avait faites précédemment sur les graisses avec le suc pancréatique.

BERTHELOT observa que le suc pancréatique saponifie complètement en 24 heures une solution aqueuse de monobutyryne (monoglycéride de l'acide butyrique) ; il put mettre en évidence l'acide butyrique libéré et la glycérine. Il obtint facilement aussi la saponification de la diacétine (diglycéride de l'acide acétique) et de l'acé-

tate d'éthyle ; mais il n'obtint que des résultats douteux avec les triglycérides élevés, existant normalement dans les huiles et graisses naturelles. Ces résultats, en désaccord avec tout ce que nous savons actuellement de la lipase pancréatique, sont dus à ce que Berthelot ne connaissait pas les conditions, déterminées plus tard, réalisant le milieu optimum pour cette diastase.

Depuis cette époque, les travaux sur les lipases se sont multipliés ; on commence à voir plus clair dans cette question que nous allons exposer brièvement en nous limitant aux lipases d'origine animale.

*
* *

Les lipases découvertes chez les êtres vivants forment un groupe très hétérogène. Cependant lorsqu'on désire en avoir une idée d'ensemble, on peut les classer autour de deux types principaux : la *lipase du pancréas* et celle des *graines de ricin* ; nous verrons que les *lipases microbiennes* se rapprochent beaucoup plus de la première que de la seconde.

Ces deux types diffèrent profondément. En effet la lipase pancréatique, parfaitement soluble, préfère un milieu légèrement alcalin. Au contraire la lipase des graines de ricin n'agit qu'en présence d'une certaine dose d'acide et, comme l'a montré NICLOUX (4), est toujours insoluble ; la première est donc vraiment un « ferment soluble », tandis que la seconde est un « ferment soluble » insoluble. Vraisemblablement les matières étrangères, dont nous ne savons pas encore débarrasser

complètement la lipase des graines de ricin, lui donnent cette physionomie bien spéciale.

Pour le sujet qui nous occupe, nous ne parlerons que de la *lipase pancréatique* et des lipases qui s'y rattachent.

Nous avons indiqué précédemment les essais de saponification tentés par CL. BERNARD et par BERTHELOT à l'aide du suc pancréatique. En plus de la lipase, se trouvent dans ce dernier de l'amylase, de la trypsine et d'autres substances qui lui donnent son aspect visqueux et une réaction alcaline. Pour étudier avec quelque précision l'action de la lipase, il était nécessaire de la séparer de toutes ces impuretés. On y arrive maintenant par des procédés chimiques et physico-chimiques, suivant les indications de WILSTÆTTER (5).

Ce ferment purifié contient 10 % d'azote, beaucoup de cendres, mais il est dépourvu d'hydrocarbures et n'a que des traces de matières albuminoïdes. Il est parfaitement soluble dans l'eau et dans la glycérine ; tandis qu'il est stable dans cette dernière, il se détruit plus ou moins rapidement dans l'eau comme dans l'alcool ou même l'acétone. Sa température optima est voisine de 40°. Le pH le plus favorable est de 7,5 ; cependant il peut saponifier encore si le pH est au voisinage de 4,5 ; ce dernier point est à remarquer, car le suc pancréatique, c'est-à-dire la lipase très impure, ne peut saponifier qu'en milieu alcalin présentant par conséquent un pH beaucoup plus élevé.

Le pouvoir saponifiant de la lipase purifiée est favorisé par certaines substances : les sels biliaires, les sa-

vons solubles, les sels de chaux, l'albumine. A cause de son action adjuvante, on a cru tout d'abord que la bile transformait une prolipase pancréatique inactive en lipase active ; il n'en est rien, car la lipase purifiée est capable de saponifier à elle toute seule, quoique plus lentement ; d'autre part les sels biliaires favorisent l'action lipasique parce qu'ils émulsionnent d'une façon stable les matières grasses comme le font d'ailleurs les savons solubles. Quant aux sels de chaux, c'est évidemment en se combinant avec les acides gras, au fur et à mesure de leur libération, qu'ils facilitent la saponification. Si les sels de chaux sont associés à une substance colloïdale comme l'albumine, la vitesse de saponification est encore accrue sans qu'on puisse d'ailleurs en donner une explication claire.

Quelques substances sont très nocives pour la lipase purifiée : l'alcool éthylique, le chloroforme, l'acétone, la triacétine et surtout l'ion Fl. ; la quinine gêne son action ; l'atoxyl ne la gêne pas.

Tous les éthers de la glycérine sont saponifiés par la lipase pancréatique, et la vitesse de saponification s'accroît avec leur poids moléculaire. D'autre part la structure des acides gras intervient : la trioleïne par exemple est saponifiée dix fois plus vite que la tripalmitine et la tristéarine ; les butyrates normaux sont saponifiés beaucoup plus facilement que les isobutyrate dont la chaîne acide est ramifiée. Enfin lorsque la lipase est mise en présence de glycérides racémiques, elle ne saponifie que l'un des isomères optiques (par exemple les éthers tartriques gauches de préférence à leurs isomères droits),

de telle sorte que le milieu devient optiquement actif.

Les éthers de la cholestérine sont saponifiés par la lipase pancréatique, mais non les cires ; ces faits sont à retenir pour le moment où nous étudierons l'action de la lipase sur le bacille de Koch.

On a découvert des lipases dans presque tous les tissus et organes des animaux supérieurs, mais elles présentent des caractères qui les différencient de la lipase pancréatique.

La *lipase du foie* est plus stable, mais moins active sur les graisses neutres. Son *pH* est compris entre 8 et 9. Son action n'est favorisée ni par les sels biliaires ni par les sels de chaux ni par l'albumine ; elle n'est pas gênée par la quinine, mais l'est par l'atoxyl. Elle saponifie elle aussi tel éther plutôt que tel autre suivant sa constitution stéréochimique : les isobutyrate plutôt que les butyrate, les éthers tartriques droits plutôt que les gauches, c'est-à-dire l'inverse de ce que nous avons vu pour la lipase pancréatique.

La *lipase gastrique* ne saponifie que les graisses émulsionnées. Son *pH* optimum est voisin de 5. Elle n'est pas activée par les sels biliaires.

La *lipase intestinale* présente les mêmes propriétés que la lipase pancréatique.

La *lipase du sang* a été découverte par HANRIOT (6). Ce n'est pas seulement une *monobutyrynase* comme on l'a prétendu ; si elle saponifie rapidement la monobutyryne, elle hydrolyse aussi, quoique lentement, les triglycérides et plus ou moins rapidement les éthers-sels à acides organiques. La vitesse de saponification de ces

deruiers est d'autant plus grande que le poids moléculaire du radical acide est plus considérable. Cette lipase est très sensible à la fois à la quinine et à l'atoxyl.

La plupart des *tissus* ont un pouvoir saponifiant plus ou moins prononcé, en général faible pour les graisses naturelles et les triglycérides, plus énergique pour les éthers simples, les lécithines; les cires elles-mêmes et les éthers de la cholestérine sont attaqués par le tissu lymphatique et en particulier par les *lymphocytes* (N. FIESSINGER ; 7).

Toutes ces lipases sont-elles foncièrement distinctes, ou bien les caractères qui permettent de les différencier sont-ils simplement sous la dépendance des impuretés dont on ne sait pas encore les débarrasser ? A cette question, il est impossible pour le moment de donner une réponse péremptoire.

Néanmoins les auteurs ont cherché quelle était la *répartition du pouvoir lipasique* dans les différents tissus et organes d'une même espèce animale, en particulier chez les mammifères. Il est bien évident que les résultats de ces divers travaux ne pourront être rapprochés les uns des autres que si le pouvoir lipasique a été déterminé par la mesure de l'action fermentaire sur la même substance saponifiable, et dans les mêmes conditions.

POULAIN (8) a montré que les ganglions lymphatiques renferment de la lipase.

KASTLE et LÖEWENHART (9) se sont servis de butyrate d'éthyle (au lieu de monobutyryne), de tournesol comme indicateur et de potasse comme substance neutralisant

l'acidité produite. Ils ont constaté que l'estomac et l'intestin grêle jouissent du pouvoir lipasique ; ils ont dressé un tableau où sont comparés les pouvoirs des divers organes :

Pancréas.....	1
Foie.....	2,93
Rein.....	0,50
Glandes salivaires.....	0,36

N. FIESSINGER et P.-L. MARIE (10) ont utilisé la méthode de dosage (monobutyryne, tournesol et soude) proposée par HANRIOT et CAMUS (11) pour déterminer le pouvoir lipolytique des ganglions lymphatiques, de la rate et de la moelle osseuse vis-à-vis de la monobutyryne et de la graisse neutre de beurre. Ils ont trouvé que la lipase est surtout abondante dans les tissus lymphoïdes (rate et ganglions). On en trouve aussi dans les exsudats à lymphocytes (liquides de pleurésie, d'ascite, d'hydrothorax, d'hydarthrose) tandis qu'elle manque dans les exsudats à polynucléaires des suppurations aiguës.

H. ROGER et L. BINET (12), étudiant la lipodiérèse du poumon déterminent, par la méthode de dosage des graisses de KUMAGAWA le pouvoir lipolytique des différents organes qu'ils classent ainsi suivant la perte % de graisse :

Foie.....	41
Poumon.....	39
Ganglions mésentériques....	34
Pancréas.....	31
Rein.....	31

Rate.....	17
Muscles.....	12
Cerveau.....	9

Voici les résultats moyens que nous avons obtenus en mesurant le pouvoir lipasique du sang et des différents organes du cobaye sain, à l'aide d'une méthode physique que nous exposerons plus loin :

Sérum sanguin.....	1
Foie.....	3,46
Ganglions.....	0,59
Poumons.....	0,55
Rate.....	0,45

*
* *

La *lipase des bactéries*, spécialement des microbes pathogènes, ressemble par sa solubilité, par son pH optimum, à celle du pancréas, mais se montre plus résistante à l'action de la chaleur. La lipase du *bacille de Koch* est pour nous particulièrement intéressante ; on la trouve dans le corps même du bacille, mais surtout dans le bouillon de culture en voile ; elle est d'autant plus abondante que la culture est plus développée, mais après avoir atteint un maximum, elle diminue puis disparaît ; les vieilles cultures n'en contiennent plus. On retrouve aussi cette lipase dans les cultures d'autres bacilles acido-résistants, dans celles des bacilles tuberculeux bovins, aviaires, dans celles des bacilles paratuberculeux de la peau, du smegma, de la fléole, etc. Elle saponifie la monobutyryne, le butyrate et l'acétate d'éthyle

et, quoique faiblement, l'huile de ricin. Son action hydrolysante est rapide ; elle est déjà manifeste au bout de cinq minutes vis-à-vis des graisses (triglycérides). Enfin elle offrirait cette particularité assez inattendue de résister pendant 15 minutes au chauffage à 100°, à l'état humide, sans que son activité soit affaiblie.

CHAPITRE II

POUVOIR LIPASIQUE ET TUBERCULOSE

SOMMAIRE. — *Rôle des lipases ; action sur le bacille de Koch ; lipase et immunité antituberculeuse ; le pouvoir lipasique sanguin chez les tuberculeux. — Recherches sur le pouvoir lipasique des cobayes tuberculeux ; essais d'augmentation de ce pouvoir.*

Nous n'insisterons pas sur le rôle très important des lipases soit dans la *digestion des graisses* soit dans les *mouvements des graisses* à l'intérieur de l'organisme animal ; nous ne dirons rien non plus de l'action des lipases dans l'*autolyse aseptique in vitro* et dans l'*autolyse pathologique in vivo* des différents tissus. Aussi intéressantes que soient ces questions, elles sont en dehors de notre sujet. Nous résumerons seulement ce que nous savons actuellement de l'*action des lipases sur le bacille tuberculeux*.

Cette action n'est pas inattendue pour qui sait que l'enveloppe du bacille tuberculeux humain, cultivé sur bouillon peptoné glyciné, contient de 30 à 40 % de substances lipoides. D'après GORIS (13), ce sont des acides gras libres, des glycérides d'acides gras volatils, d'acides

gras saturés et d'acide oléique, des cires difficiles à saponifier et formées surtout de laurate de mykol, un éther particulier (hyalinol) dédoublable en acide crotonique et substance odoriférante (jasmin ou mimosa), un phospholipoïde, de la cholestérine et des substances sulfurées dégageant une odeur alliagée pendant la saponification de la matière grasse. L'acido-résistance du bacille est due à ces substances lipoïdes qui l'imprègnent.

Les premiers essais de saponification de ces matières grasses ont été réalisés par FONTES (14). Cet auteur isola des ganglions tuberculeux un ferment qu'il appela *tuberculocirase*. Ce ferment saponifie la graisse extraite du bacille à l'aide de la dissolution par le xylol suivie d'une précipitation par l'alcool absolu et d'une émulsion dans l'eau distillée ; il fait apparaître des corps solubles dans l'alcool cristallisant par refroidissement ; ce sont des cristaux d'acides gras palmitique et stéarique, fusibles à $+ 75^{\circ}$.

N. FIESSINGER (7) montre ensuite que la lipase extraite de la chenille de la mite des abeilles, — chenille dont l'immunité contre le bacille de Koch a été si bien mise en évidence par MÉTALNIKOFF (15), — produit elle aussi la saponification de cette graisse.

Cependant ce n'était là qu'une démonstration chimique de l'hydrolyse des lipoïdes bacillaires sous l'influence de la lipase. N. FIESSINGER et P.-L. MARIE (16) la poussèrent plus loin, en montrant que la lipase extraite, soit des suppurations tuberculeuses, soit de la chenille de la mite des abeilles, exerce une action caractéristique sur le bacille de Koch. En faisant agir sur

des émulsions de ce dernier des quantités définies de liquide lipasique, pendant 24 heures à + 52° et en centrifugeant ensuite, ils obtinrent des bacilles dont l'enveloppe graisseuse semblait attaquée : en effet les éléments microbiens apparaissent plus grêles et granuleux par la coloration suivant la méthode de FONTES. De plus en maintenant les bacilles, après l'action de la lipase, pendant 24 heures dans une solution de trypsine ou de protéase à 1 %, et en les colorant ensuite par la méthode de FONTES, ces auteurs constatèrent des figures de bactériolyse intense : les bâtonnets acido-résistants ont presque entièrement disparu et sont remplacés par de nombreuses granulations colorées en violet. La lipase avait donc sensibilisé les bacilles, les avait rendu vulnérables par les ferments protéolytiques.

Tout naturellement ces faits ont permis d'émettre une hypothèse sur le rôle actif des lipases dans la défense antibacillaire de l'organisme, surtout lorsqu'on les rapproche d'autres considérations que nous allons maintenant exposer.

Les sérums d'homme et de chien sont environ quatre fois plus riches en lipase que le sérum de cobaye : peut-être est-ce à cette circonstance que le cobaye doit sa grande sensibilité à l'infection tuberculeuse ?

D'autre part les chenilles de la mite des abeilles sont, comme l'a montré METALNIKOFF, immunisées contre l'infection par les bacilles tuberculeux qu'elles détruisent avec une rapidité extrême lorsqu'ils sont introduits par inoculation dans leurs tissus ; or du corps de ces chenilles N. FIESSINGER a pu extraire une lipase très active,

que PERTZOFF (17) a même isolée de la poudre sèche de chenilles.

En médecine humaine, on a constaté que le pouvoir lipasique du sang est considérablement diminué chez les tuberculeux et qu'il l'est d'autant plus que l'état du malade est plus grave. Nous ne citerons que quelques-uns des résultats obtenus par les auteurs en utilisant le procédé d'HANRIOT pour le dosage de la lipase sanguine.

CLERC (18) rapporte 29 observations de malades atteints de tuberculose :

« Sur 21 malades fortement hypolipasiques (index lipolytique de 5 à 9) un seul a survécu plus d'un mois et n'a pu être suivi plus longtemps, un autre est mort au bout de 2 mois 1/2; les autres ont tous succombé dans un délai rapide. Sur les 8 malades dont la lipase était plus ou moins active, un seul est mort d'accidents péritonéaux. »

PISNIATCHEVSKY (cité par CALMETTE (19), p. 458) a étudié les variations du pouvoir lipasique chez des centaines de tuberculeux dans les hôpitaux de Pétrograd. Alors que chez les individus sains la moyenne du pouvoir lipasique est de 13 à 14 elle descend à 4 et même à 2,5 chez les malades gravement atteints. Lorsque l'état des malades s'améliore, on observe une élévation de l'énergie lipolytique.

Les recherches de GUEGUETCHKORIS (20) ont porté sur 8 sujets sains et sur 36 atteints de tuberculose à différents degrés : l'index lipolytique des sujets sains est de 12 à 13, tandis qu'il tombe à 6 et même à 3 dans les cas graves de tuberculose. La diminution brusque de l'index permet de soupçonner une issue fatale,



La connaissance de ces faits nous a conduit à différentes recherches.

Est-ce parce que le pouvoir lipasique de certains organismes humains est primitivement diminué que les bacilles de Koch peuvent s'y multiplier plus rapidement que chez d'autres ? Ce problème n'a pas encore été résolu et nous n'avons pas voulu le résoudre dans ce travail.

Nous avons recherché si les cobayes atteints de tuberculose expérimentale ont, comme les hommes tuberculeux, un pouvoir lipasique diminué, presque annihilé. Nous nous sommes demandé, dans le cas où nous constaterions cette diminution, si nous devions l'attribuer à la vie du bacille de Koch dans l'organisme du cobaye ou si nous ne l'obtiendrions pas aussi bien en injectant à cet animal des bacilles tués par la chaleur. Puis poussant plus loin la discussion du problème, nous avons cherché à savoir si la diminution du pouvoir lipasique — dans le cas où elle serait réelle — pouvait être attribuée à l'action sur l'organisme de substances diffusibles hors du bacille ; ces substances, nous avons essayé de les déceler soit dans le filtrat de cultures de bacilles de Koch sur bouillon glycérimé soit dans la tuberculine.

Enfin nous avons cherché s'il nous serait possible d'augmenter le pouvoir lipasique des cobayes à qui nous injecterions des huiles par voie parentérale. Cela peut avoir une certaine importance thérapeutique, car nous savons d'après les travaux de FONTES et de N. FIESSINGER,

que nous avons rappelés, que la lipase, en saponifiant ses lipoïdes, rend le bacille de Koch vulnérable par les ferments protéolytiques. On ne peut objecter *a priori* que l'huile injectée étant très différente de l'enveloppe cireuse du bacille, la lipase qui apparaîtra sera sans action sur cette dernière : ABDERHALDEN et ses élèves ont en effet démontré que les *diastases de défense* n'ont qu'une spécificité de groupe, en ce sens que le sérum d'un animal, qui a reçu par exemple de l'amidon, double aussi le saccharose mais non les protéiques. Peut-être trouverons-nous là l'explication de ces véritables résurrections observées en clinique chez les tuberculeux qui peuvent supporter un régime copieusement gras (huile de foie de morue, poissons gras, etc...).

DEUXIÈME PARTIE

Technique expérimentale

Pour réaliser nos expériences qui ont duré plusieurs mois, nous avons suivi une technique minutieusement étudiée ; nous sommes donc certain que les résultats que nous présentons sont absolument comparables les uns aux autres.

Dans les deux chapitres suivants, nous indiquerons d'abord comment nous avons préparé les cobayes et comment nous avons fait les prélèvements ; puis nous décrirons les méthodes physiques et chimiques mises en œuvre pour mesurer le pouvoir lipasique du sang et des organes de ces animaux d'expérience.

CHAPITRE III

PRÉPARATION DES ANIMAUX. PRÉLÈVEMENTS

SOMMAIRE. — *Préparation des animaux ; inoculations de bacilles de Koch vivants ; inoculations de bacilles de Koch tués par la chaleur ; inoculations de filtrat ; inoculations de tuberculine ; injections d'huile d'olive éthérée ou d'huile de foie de morue éthérée. — Prélèvements de sang par ponction intra-cardiaque ; prélèvements d'organes.*

§ 1. — Préparation des animaux

Les cobayes ont été préparés soit par des inoculations de produits tuberculeux, soit par des injections d'huile éthérée, et quelques-uns par les deux procédés ; mais un même animal n'a jamais été inoculé qu'avec un produit tuberculeux de même espèce (par exemple, bacilles de Koch vivants, ou tuberculine) ou n'a jamais reçu que des injections d'une huile éthérée déterminée, toujours la même.

Inoculations conjonctivales de bacilles de Koch vivants.

Le cobaye étant solidement immobilisé en position horizontale par un aide, on écarte les paupières de l'œil droit, en les soulevant légèrement ; avec une boucle, de

2 mm. de diamètre, en fil de platine on prélève une certaine quantité de bacilles — toujours la même — dans une culture sur pomme de terre glycinée et on les dépose dans le cul-de-sac conjonctival. On ferme ensuite doucement les paupières à deux ou trois reprises et on remet le cobaye en liberté.

Nous avons utilisé cette voie d'infection plutôt que la voie sous-cutanée pour des raisons clairement exposées par CALMETTE (19, pp. 179-180).

« On verra, écrit-il, évoluer chez cet animal, sans qu'il se produise la moindre lésion au niveau du globe oculaire, de ses enveloppes ou de leur voisinage immédiat, une tuberculose ganglionnaire typique, débutant par le ganglion rétro-mastoïdien, envahissant aussitôt les 2 ganglions rétropharyngiens, les 2 ganglions de la partie antérieure du cou, puis les trachéaux, les bronchiques et s'étendant en l'espace de 4 à 5 semaines à d'autres groupes viscéraux, aux ganglions du hile du foie, à ceux du mésentère, parfois aussi à des ganglions superficiels tels que les inguinaux, à la rate et presque constamment aux poumons.

Ce mode d'infection est donc très sûr et, à la gravité près (due à la virulence des bacilles employés) la forme de tuberculose qui en résulte ressemble singulièrement, dans sa première phase, à celle qui caractérise chez l'homme, surtout dans l'enfance, la *scrofule*. La ressemblance est telle qu'en examinant les animaux d'expérience, l'idée vient immédiatement à l'esprit que la contagion familiale humaine s'exerce fréquemment sans doute par la même voie, et qu'elle est alors consécutive à la projection, par un tuberculeux toussueur, sur la conjonctive oculaire de sujets sains, de particules de salive riches en bacilles.

Beaucoup mieux que l'inoculation expérimentale [sous-cutanée], l'infection par instillation oculaire, réalisant l'in-

fection en quelque sorte naturelle par les voies lymphatiques, sans effraction de tissus, *sans lésions à la porte d'entrée des bacilles*, permet d'étudier, chez le cobaye, l'action des tuberculines, celle des sérums et des substances chimiques susceptibles d'influencer l'évolution de la tuberculose. Cette voie peut aussi être utilisée avec avantage, pour les essais de vaccination avec des bacilles modifiés ou atténués. »

Inoculations de bacilles de Koch tués par la chaleur.

Ces bacilles provenaient d'une culture en voile, sur bouillon glycérimé à 4 %, âgée de 6 semaines. Le voile compact, ridé, caractéristique, recouvrait tout le liquide et grimpait un peu sur la paroi du ballon ; le bouillon sous-jacent était clair.

Par la tubulure latérale du ballon, située au dessous du niveau du voile, le bouillon fut aspiré dans une pipette à boule et traité comme nous le verrons plus loin.

Quant au voile resté dans le ballon, il fut stérilisé dans l'autoclave par *chauffage* à $+ 115^{\circ}$ pendant dix minutes. Ensuite on le mit en suspension dans de l'eau physiologique stérile pour le laver ; après plusieurs centrifugations et lavages à l'eau physiologique stérile, on l'étala dans une boîte de Pétri stérile pour le mettre à sécher pendant 24 heures dans l'étuve à $41^{\circ}5$.

Plusieurs fragments de ce voile furent ensemencés sur les milieux électifs (bouillon glycérimé, pomme de terre glycérimée, milieu de Pétrof) ; ces ensemencements placés à l'étuve à $+ 38^{\circ}$ ne donnèrent jamais de cultures positives même après plusieurs mois d'observation : les bacilles étaient donc bien tués.

Une boucle de ces bacilles tués fut déposée sur la

conjonctive des cobayes en prenant les précautions indiquées précédemment pour l'instillation des bacilles vivants.

Par *inoculation sous la peau* de la face interne de la cuisse droite, d'autres cobayes reçurent la même quantité de bacilles tués, mis en suspension dans un centimètre cube d'eau physiologique.

L'excédent des bacilles tués fut conservé à la glacière, dans un flacon stérile fermé par un bouchon de verre, pour des inoculations ultérieures.

Inoculations du filtrat de culture de B. K sur bouillon glycérimé.

Le bouillon, recueilli précédemment sous la culture en voile, fut additionné de plusieurs centimètres cubes d'une culture en bouillon, âgé de 24 heures, de choléra des poules et filtré sur bougie Chamberland L₅.

Cette filtration fut réalisée dans les conditions les plus correctes. Les bougies neuves, d'abord vérifiées par immersion dans l'eau et insufflation d'air sous pression pour être certain qu'elles n'étaient pas fissurées, avaient été stérilisées à l'autoclave. Ce n'est que lorsque le bouillon, ayant imbibé complètement la bougie, s'écoulait goutte à goutte par filtration dans le récipient stérile, qu'on faisait le vide dans ce dernier, sans jamais dépasser une dépression de 20 centimètres de mercure. Au bout de dix minutes, la filtration était continuée sur une autre bougie.

La stérilité du filtrat fut vérifiée par ensemencement de plusieurs centimètres cubes sur bouillon et sur gé-

lose : aucune colonie de choléra des poules n'apparut sur ces milieux placés à l'étuve à $+ 37^{\circ}$ pendant plusieurs semaines. D'autre part une certaine quantité de filtrat concentré dans le vide sulfurique futensemencée sur pomme de terre glycélinée et sur milieu de Pétrof : après plusieurs mois de séjour à l'étuve ces milieux restèrent stériles.

Le filtrat était conservé à la glacière en ampoules scellées.

Nous l'avons inoculé aux cobayes tous les deux jours, à doses croissantes, avec le rythme suivant : d'abord par voie sous-cutanée 0 cm^3 1, 0 cm^3 2, 0 cm^3 3, 0 cm^3 4, 0 cm^3 5 ; puis par voie intrapéritonéale 1 cm^3 , 2 cm^3 , 4 cm^3 , 8 cm^3 , 10 cm^3 .

Après quelques jours d'interruption, les injections intrapéritonéales étaient reprises à la dose de 10 cm^3 , à 15 jours d'intervalle.

Inoculations de tuberculine

Nous avons utilisé la tuberculine brute pour usage vétérinaire de l'Institut Pasteur ou *tuberculine ancienne de Koch*. Nous n'en rappellerons pas le mode de préparation, mais dirons seulement qu'elle provient de la concentration, au dixième de son volume, du bouillon glycéliné à 4 % sur lequel s'est développé un voile âgé de 6 semaines. Voici d'après CALMETTE (19, pp. 107-108) ce qu'elle contient :

« La tuberculine initiale de R. Koch renferme à la fois les poisons solubles excrétés par le bacille dans les milieux de culture, les *exotoxines*, et une partie des poisons protoplas-

miques *endobacillaires*, dont la concentration lente à chaud, en milieu de plus en plus riche en glycérine, facilite la diffusion dans le liquide. Mais les exotoxines y sont surtout abondantes car d'une part les bacilles tuberculeux retenus sur le filtre après la macération sont à peine moins toxiques qu'ils avaient simplement été tués par un chauffage d'égale durée, et d'autre part on peut préparer une tuberculine — sensiblement moins toxique il est vrai, mais encore active — en concentrant directement les milieux de culture dont on a préalablement séparé les B. K. C'est d'ailleurs ainsi que procédait DENYS (de Louvain) pour la préparation de la tuberculine employée par lui dans le traitement des malades. Cette tuberculine n'était autre chose que le bouillon de culture simplement filtré à travers des bougies poreuses. »

Nous avons injecté cette tuberculine, *par voie sous-cutanée*, tous les 2 jours en commençant par $\frac{1}{100}$ de cm^3 pour aboutir — comme l'avaient déjà fait dans un autre but CALMETTE et MASSOL — à 1 cm^3 au vingtième jour.

Nous injections donc, au début, $0 \text{ cm}^3 1$, $0 \text{ cm}^3 2$, $0 \text{ cm}^3 3$, $0 \text{ cm}^3 4$, $0 \text{ cm}^3 5$, d'une dilution au $1/10$ de tuberculine brute dans l'eau physiologique, pour continuer par $0 \text{ cm}^3 1$, $0 \text{ cm}^3 2$, $0 \text{ cm}^3 4$, $0 \text{ cm}^3 6$, $0 \text{ cm}^3 8$ et 1 cm^3 de tuberculine non diluée.

Après quelques jours d'interruption, les injections étaient reprises à la dose de 1 cm^3 par semaine.

Injectons d'huile étherée

Pour essayer d'augmenter le pouvoir lipasique du sang et des tissus de nos animaux d'expérience, nous leur avons injecté de l'*huile d'olive étherée*, comme

l'emploie MARFAN (21) dans le traitement de la tuberculose ganglio-pulmonaire des enfants ; chez d'autres cobayes nous avons injecté de l'*huile de foie de morue éthérée*. La formule de ces produits est la suivante :

- éther sulfurique rectifié 3 cm³
- huile d'olive stérilisée ou huile de foie de morue
tyndallisée 3 jours de suite à + 60° 7 cm³

Nous avons au préalable vérifié par des ensemencements sur différents milieux la stérilité parfaite de ces huiles éthérées.

Par voie sous-cutanée profonde, dans la cuisse de préférence, nous avons injecté 0 cm³ 1 de cette préparation tous les jours pendant trois jours ; 0 cm³ 2 pendant deux jours ; 0 cm³ 3 le sixième jour ; nous avons suspendu la médication pendant 6 jours puis nous avons recommencé la série indéfiniment.

Les cobayes ainsi traités étaient divisés en deux groupes suivant l'huile injectée. Dans chaque groupe les uns étaient des animaux sains ; les autres, inoculés de bacilles virulents dans l'œil, n'ont reçu des injections d'huile éthérée qu'au moment où leurs ganglions cervicaux furent apparents ; les autres enfin étaient, au début de l'expérience, sains et traités par l'huile éthérée, mais en cours de traitement, ils furent inoculés dans l'œil avec des bacilles virulents.

Afin de contrôler le bon état d'entretien et d'alimentation de tous ces animaux, nous avons pris le soin de les peser chaque semaine ; pendant toute la durée des expériences nous avons constaté que leur poids s'est

maintenu constant ou s'est accru, même pour la plupart de ceux dont la vie s'est terminée dans la cachexie tuberculeuse.

§ 2. — Prélèvements

De tous ces animaux, nous avons dosé périodiquement le pouvoir lipasique du sang, et après leur sacrifice les pouvoirs lipasiques du foie, de la rate, des ganglions et des poumons.

Ponction intra-cardiaque

On a observé depuis longtemps que chez l'homme le pouvoir lipasique du sang présente de grandes différences pour le même individu, suivant que le sang a été recueilli par ventouses scarifiées ou par ponction de la veine.

Pour que toutes nos expériences chez le cobaye donnent des résultats comparables, nous avons toujours recueilli le sang par ponction intracardiaque.

Cette petite opération est absolument inoffensive lorsque la quantité de sang prélevée ne dépasse pas 10 cm³ pour les cobayes de 500 grammes ; or nous n'avions besoin que de 2 cm³ de sérum ce qui correspond à une quantité de sang inférieure à 10 cm³. De plus, comme les aiguilles que nous utilisions avaient un biseau ni trop allongé ni trop coupant, le traumatisme cardiaque était insignifiant et nous avons pu répéter nos ponctions plusieurs fois sur le même animal à quelques jours d'intervalle.

Pour faire la ponction, l'animal étant fixé sur le dos, on épile la région précordiale et on la badigeonne de teinture d'iode ; on cherche à percevoir avec le doigt les battements cardiaques sur le bord gauche du sternum à 1 cm. environ au-dessus de l'angle chondro-xyphoïdien ; en ce point on plonge d'un seul coup l'aiguille stérile montée sur une seringue de 10 cm³ stérile et sèche ; le sang refoulant le piston, on l'aspire lentement ; on retire brusquement l'aiguille du thorax et on vide aseptiquement la seringue dans un tube stérile.

On laisse reposer et coaguler le sang ; lorsque le caillot commence à se rétracter, le tube est placé à la glacière pour permettre la séparation du sérum. On décante celui-ci avec précaution dans un tube à hémolyse que l'on centrifuge pour obtenir un sérum absolument clair.

Le pouvoir lipasique du sérum doit être mesuré le jour même.

Prélèvement des organes.

Au lieu de laisser mourir les cobayes malades, nous les avons sacrifiés à la période agonique ; les autres ont tous été sacrifiés à la date choisie.

Avant le sacrifice, du sang est recueilli par ponction intra-cardiaque : puis on tranche la gorge du cobaye rapidement, d'un seul coup, avec un couteau à forte lame coupant bien. Suspendu par les pattes postérieures, le corps de l'animal se vide de son sang et les différents organes sont aussi exsangues que possible.

L'autopsie est conduite suivant les règles habituelles ;

le protocole en est rédigé aussitôt après ; le foie, la rate, les poumons et les ganglions prélevés aseptiquement sont recueillis dans des boîtes de Pétri stériles, immédiatement placées à la glacière.

Le pouvoir lipasique était mesuré le jour même. Pour cela, on faisait des bouillies de chaque organe avec le *broyeur à toiles fines de Borrel*, qui doit évidemment être stérile. Un gramme de cette bouillie était mis en présence de la solution saturée de monobutyryne comme nous le dirons plus loin.

Il est inutile de laver ces bouillies avec de l'eau physiologique stérile pour les débarrasser du sérum sanguin qui les imprègne. En effet toutes nos mesures ont été faites sur des bouillies imprégnées de sérum dans des conditions absolument comparables d'un animal à l'autre ; d'autre part le lavage des bouillies aurait peut-être pour effet de détruire une partie de leurs lipases, qui sont altérables par l'eau, comme nous l'avons vu précédemment.

CHAPITRE IV

LA MESURE DU POUVOIR LIPASIQUE

SOMMAIRE. — *Méthode physique ; tension superficielle et compte-gouttes ; préparation d'une solution saturée de monobutyryne en milieu tampon de phosphates ; mesure de l'hydrolyse de la monobutyryne par une lipase ; établissement du diagramme temps-nombre de gouttes ; évaluation du pouvoir lipasique d'un sérum ou d'un organe ; ses variations. — Méthode chimique.*

Nous savons que les lipases transforment la monobutyryne en glycérine et acide butyrique. Cette transformation est d'autant plus rapide que le pouvoir lipasique des sérums et organes examinés est plus grand ; par conséquent si nous avons à notre disposition un moyen de mesurer la vitesse d'hydrolyse d'une quantité déterminée de monobutyryne, nous pouvons du même coup mesurer le pouvoir lipasique correspondant ; ce moyen nous est donné par la *méthode physique du compte-gouttes*.

D'autre part plus le pouvoir lipasique est grand, plus est grande la quantité d'acide butyrique apparu en un

temps donné à partir d'une même quantité de monobutyryne ; par conséquent en titrant cet acide butyrique par la *méthode acidimétrique* usitée en chimie analytique, nous mesurerons encore ce pouvoir lipasique.

1. — Méthode physique.

Tension superficielle et compte-gouttes.

Les mélanges d'eau et de monobutyryne ont des *tensions superficielles* plus basses que l'eau pure. Si on les fait couler par gouttes, sous un volume donné, à travers un orifice de dimensions constantes, le nombre de gouttes correspondant à chacun de ces mélanges est constant et, en outre, d'autant plus petit que la proportion de monobutyryne est plus faible. On a donc là un moyen de mesurer l'appauvrissement en monobutyryne d'une solution saturée au fur et à mesure qu'une lipase la transforme.

MODE D'EMPLOI DU COMPTE-GOUTTES. — L'instrument imaginé par DUCLAUX est un compte-gouttes d'une capacité de 5 centimètres cubes entre le trait de jauge supérieur et l'extrémité de l'ajutage cylindrique inférieur. Ce dernier est formé d'un tube capillaire dont le diamètre est tel que les gouttes se succèdent à la vitesse de une à une et demie par seconde ; l'appareil est construit de telle sorte que, rempli d'eau distillée, à la température de $+ 15^{\circ}$ il donne exactement 100 gouttes.

Pour doser de petites quantités de monobutyryne en solution aqueuse, on remplit la pipette jusqu'au trait d'affleure-

ment supérieur par aspiration, puis on nettoie et on essuie soigneusement avec du papier Joseph l'extrémité rodée de l'ajutage, qui doit être bien propre et surtout ne jamais être grasse. Le liquide est maintenu dans la pipette, pendant cette opération, grâce à la fermeture de l'orifice supérieur au moyen du doigt que l'on y appuie. On dispose alors le compte-gouttes bien verticalement, en le maintenant avec la pince d'un support fixe, puis on enlève le doigt et on compte avec soin les gouttes qui s'écoulent dans un récipient. On note en même temps la température, car le nombre de gouttes pour une même solution varie avec la température. Si à la fin de l'opération une goutte reste adhérente à l'extrémité de l'ajutage, on la compte pour une demi-goutte.

Il faut répéter à plusieurs reprises, la détermination du nombre de gouttes pour chaque solution ; elles doivent coïncider à une goutte près ; il n'y a guère de flottement à cet égard que pour les très fortes teneurs en monobutyryne.

Après usage, le compte-gouttes doit être très soigneusement nettoyé avec le mélange d'acide sulfurique et bichromate de potasse, lavé à l'eau courante, à l'eau distillée, à l'alcool, à l'éther et mis à sécher à l'étuve à $+37^{\circ}$.

Préparation d'une solution saturée de monobutyryne en milieu tampon de phosphates.

La solution dont nous partions pour faire nos mesures de vitesse d'hydrolyse était une *solution saturée de monobutyryne en milieu tampon de phosphates monosodique et disodique* ; nous avons ainsi réalisé le *pH* optimum pour l'action de la lipase ; d'autre part la saturation était faite à la température moyenne du laboratoire ($+18^{\circ}$ environ).

Pour préparer le *milieu tampon de phosphates* ; nous partions d'une solution d'acide phosphorique (PO^4H^3)

molaire, c'est-à-dire renfermant une molécule d'acide par litre ; cette solution est donc 3 fois normale puisqu'elle contient par litre trois H acides neutralisables chacun par un (OH) alcalin. Nous en avons vérifié le titre par la méthode volumétrique connue, avec une solution normale de soude, en présence de méthylorange comme indicateur.

La solution phosphorique étant exactement molaire, si nous versons dans 10 cm³ de cette solution acide 10 cm³ de soude normale, le mélange renferme du phosphate monosodique ($\text{PO}_4 \text{NaH}^2$). Si nous ajoutons de nouveau 10 cm³ de soude normale, nous obtenons du phosphate disodique ($\text{PO}_4 \text{Na}^2 \text{H}$). Ce sont ces phosphates que nous avons d'abord préparés pour réaliser la solution tampon.

En versant dans un flacon 10 cm³ mesurés à la pipette d'abord d'acide phosphorique molaire, puis de soude normale et finalement d'eau distillée, nous obtenions une solution au *tiers molaire de phosphate monosodique* ; en ajoutant à 10 cm³ d'acide phosphorique molaire, dans un autre flacon, 20 cm³ de soude normale, nous obtenions une solution au *tiers molaire de phosphate disodique*. Avec ces solutions, nous avons préparé le *milieu tampon* en mélangeant 100 cm³ d'eau bidistillée, 1 cm³ de phosphate monosodique 1/3 molaire et 7 cm³ de phosphate disodique 1/3 molaire, toutes ces quantités étant exactement mesurées à la pipette.

Enfin la *solution saturée de monobutyryne* était préparée en versant un centimètre cube de monobutyryne dans la solution tampon de phosphates. Après avoir

agité ce mélange pendant dix minutes dans un flacon fermé, nous avons filtré le liquide, mais en rejetant les premiers et les derniers centimètres cubes pour ne conserver que le cœur du filtrat,

Mesure de l'hydrolyse de la monobutyryne par une lipase.

Voici maintenant comment nous avons fait la mesure, en fonction du temps, de l'appauvrissement en monobutyryne de cette solution saturée, sous l'influence d'une quantité constante de lipase.

25 cm³ de solution saturée de monobutyryne en milieu tampon de phosphates étaient versés dans un verre en pyrex et placés dans un bain d'eau à 16°-18°, c'est-à-dire à la température du laboratoire. En prenant cette précaution, nous avons rendu nos mesures, faites à plusieurs mois d'intervalle, absolument comparables les unes aux autres.

A ces 25 cm³, nous ajoutions soit 1 cm³ de sérum, soit un gramme de pulpe d'organe de cobaye. Dans les cas où nous n'avions à notre disposition qu'une quantité moindre de pulpe d'organe, nous la faisons agir sur une quantité moindre de solution de monobutyryne, mais toujours dans le rapport de 1 à 25.

Aussitôt le mélange fait, nous aspirions le liquide dans le compte-gouttes ; après avoir essuyé l'ajutage inférieur de celui-ci, nous comptions le nombre de gouttes s'écoulant de l'appareil. Dans nos expériences ce nombre était compris entre 171 et 159, donc voisin de 165 ; c'est parce qu'il pouvait varier avec la tempé-

rature, que nous avons pris le soin d'opérer à température à peu près constante.

Le verre contenant le mélange était replacé dans son bain d'eau, puis nous recommencions cette opération de 10 en 10 minutes environ pendant une heure. Nous constatons que les nombres obtenus décroissaient régulièrement : la quantité de monobutyryne non transformée, résiduelle, était donc de moins en moins abondante. Les nombres de gouttes correspondant à chacun des temps mesurés avec précision étaient notés.

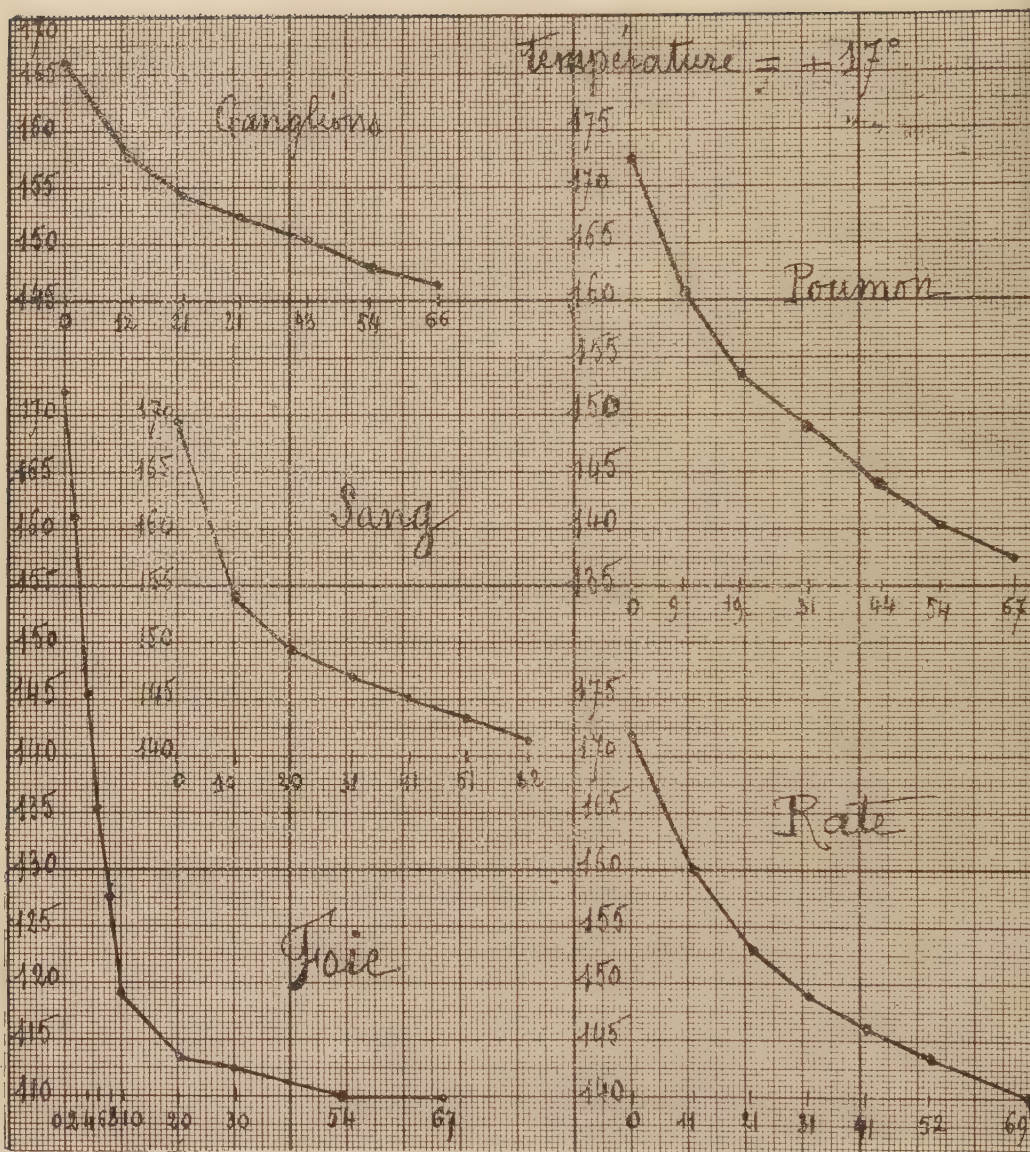
Il est bien évident qu'en mesurant le pouvoir lipasique d'une pulpe d'organe, nous prenions le soin de ne pas aspirer dans le compte-gouttes des fragments de pulpe ; celle-ci d'ailleurs, en raison de sa densité restait au fond du verre, et il nous était facile d'aspirer seulement le liquide opalescent qui la surnageait.

Etablissement du diagramme temps-nombre de gouttes.

Avec les nombres ainsi obtenus nous avons établi des diagrammes temps-nombre de gouttes, en portant en abscisses les temps et en ordonnées les nombres de gouttes correspondants ; les temps étaient comptés à partir du moment où nous avons ajouté soit le sérum soit la pulpe d'organes.

Nous ne donnerons pas dans ce travail les nombreuses courbes que nous avons dû établir au cours de nos recherches ; à titre d'exemple il nous suffira de reproduire celles qui correspondent aux mesures faites le même jour sur le sérum et les pulpes de foie, de rate,

COBAYE SAIN



En ordonnées les nombres de gouttes; en abscisses les temps en minutes
 Diagrammes temps-nombre de gouttes.

de poumons et de ganglions de l'un de nos cobayes sains, ayant servi de témoins.

Evaluation du pouvoir lipasique.

A l'aide de ces diagrammes, nous avons fait une évaluation (relative naturellement) du pouvoir lipasique d'un sérum ou d'un organe.

Pour cela il fallait au préalable déterminer des *valeurs-étalons* du pouvoir lipasique du sérum normal. Nous y sommes arrivé, en relevant dans les diagrammes temps-nombre de gouttes des sérums de cobayes sains, les temps correspondant à un même nombre de gouttes.

Dans une série d'expériences témoins où le sérum avait été remplacé par une égale quantité d'eau distillée, nous avons compté 171 gouttes et ce nombre n'a pas varié avec le temps puisqu'il n'y avait pas de lipase. Dans les premières numérations portant sur les mélanges monobutyrique + sérum frais, nous avons compté des nombres de gouttes très voisins, mais en général un peu plus faibles ; ils allaient, comme nous l'avons déjà dit, de 171 à 159 soit en moyenne 165.

Sur les diagrammes temps-nombre de gouttes des sérums normaux, nous avons alors relevé le temps au bout duquel les mélanges monobutyrique + sérum frais ont donné 155 gouttes ; nous avons trouvé comme nombre moyen 11 minutes. Puis nous avons relevé le temps au bout duquel le nombre 150 gouttes a été atteint ; nous avons trouvé comme nombre moyen 22 minutes.

Ce sont ces valeurs :

155 gouttes	11 minutes
150 gouttes	22 minutes

que nous avons retenues comme valeurs-étalons.

Nous avons ensuite comparé à ces valeurs-étalons les valeurs données par les sérums des différents cobayes sains, inoculés ou traités. Nous voyons immédiatement qu'à cause de cette comparaison il est absolument nécessaire de faire toutes les mesures à la même température à 2 ou 3° près.

Supposons qu'un sérum donne les valeurs suivantes : 155 gouttes au bout de 17 minutes, et 150 au bout de 32. Les premiers nombres montrent qu'il faut 17 minutes pour que la transformation de la monobutyryne soit égale à celle déterminée en 11 minutes par le sérum-étalon ; les seconds montrent qu'il faut 32 minutes pour déterminer la même transformation que le sérum-étalon en 22 minutes.

Les pouvoirs lipasiques des sérums sont inversement proportionnels aux temps nécessaires pour produire des actions identiques. Nous voyons donc que d'après les premiers résultats le pouvoir lipasique du sérum

examiné est égale à $\frac{11}{17} = 0,65$, d'après les deuxièmes à

$\frac{22}{32} = 0,69$ de celui du sérum-étalon, soit en moyenne de 0,67, la teneur du sérum normal moyen étant prise comme unité.

En appliquant cette méthode physique au dosage re-

latif de la lipase des sérums ou des organes, nous avons obtenu des nombres que l'on peut comparer en les groupant de différentes façons. Nous avons pu suivre ainsi pendant plusieurs mois les *variations du pouvoir lipasique* du sérum de chacun des cobayes sains, inoculés, traités ou non, comparativement à la teneur du sérum normal moyen ; nous avons pu suivre aussi les variations du pouvoir lipasique du sérum de chacun des cobayes, comparativement à la valeur qu'il avait au début des expériences avant toute intervention.

Pour les organes, nous avons établi d'une part leur pouvoir lipasique comparativement à celui des mêmes organes chez les animaux sains, et d'autre part comparativement à celui du sérum de l'animal le jour où il a été sacrifié.

§ 2. — Méthode chimique

Pour doser le pouvoir lipasique du sang ou des organes, on peut évaluer la quantité d'acide butyrique produite en un temps déterminé par une certaine quantité de ces produits agissant sur une solution aqueuse saturée de monobutyryne (HANRIOT, 6).

L'acide butyrique libéré est neutralisé avec une solution décimormale de carbonate de soude, en présence de phénol-phtaléine ; la réaction est représentée par l'équation suivante :



d'après laquelle 1 cm³ de la solution décimale de carbonate de soude correspond à 8 mgr. 8 d'acide butyrique.

Au lieu de représenter les résultats de nos mesures en poids d'acide butyrique libéré, nous avons trouvé plus simple d'exprimer directement en centièmes de cm³ les quantités de liqueur décimale de carbonate de soude nécessaires pour la neutralisation.

Voici la technique que nous avons suivie. Nous faisons tout d'abord un mélange à 1 % de monobutyrine dans l'eau distillée ; ce mélange agité pendant 10 minutes dans un flacon fermé, était ensuite filtré sur papier ; les premiers et les derniers centimètres cubes étaient rejetés car nous n'utilisions que le cœur du filtrat.

A 10 cm³ de ce filtrat, mesurés à la pipette et versés dans un tube stérile, nous ajoutions 1 cm³ exactement de sérum clair et deux gouttes de solution alcoolique de phénolphthaléine à 1 %. Au besoin ce mélange était neutralisé très exactement avec la solution décimale de carbonate de soude contenue dans une microburette donnant le centième de cm³. Le tube était ensuite placé au bain-marie à 37°.

Au bout de 20 minutes, dans le tube retiré du bain-marie, nous neutralisons exactement l'acidité produite en versant du carbonate de soude jusqu'à l'obtention de la teinte rose persistant un instant ; nous notons le volume employé de liqueur alcaline.

Ce premier dosage effectué, le mélange était remplacé au bain-marie pendant le même temps ; puis nouvelle

neutralisation et ainsi de suite par trois fois. Pour préciser le résultat définitif, nous prenions la moyenne des 3 volumes mesurés de liqueur alcaline.

Un excès de la solution de carbonate de soude hâte et augmente le dédoublement de la monobutyryne ; il faut donc avoir soin de ne pas dépasser la teinte rose exactement limite de la phénolphthaléine. Par contre une trop grande quantité de phénolphthaléine retarderait l'action de la lipase.

D'après nos déterminations, à l'état normal le sérum sanguin du cobaye a un pouvoir lipasique correspondant à 0 cm³ 97 de la solution décinormale de carbonate de soude.

Remarque. — Cette méthode chimique n'a présenté pour nous qu'un intérêt de contrôle. Dans le compte-rendu de nos résultats expérimentaux que nous donnerons plus loin, nous avons seulement indiqué en centièmes de cm³ les volumes moyens de solution décinormale de carbonate de soude obtenus chaque fois ; en comparant ces volumes avec les résultats de nos mesures et de nos calculs suivant la méthode physique, nous pourrions vérifier que ces valeurs varient le plus souvent dans le même sens.

D'autre part nous avons renoncé à l'emploi de la méthode acidimétrique pour la mesure du pouvoir lipasique des organes. En effet la pulpe obtenue par broyage est, sauf pour les ganglions, généralement si colorée par l'hémoglobine sanguine qu'il est impossible d'apprécier le virage de la phtaléine.

TROISIÈME PARTIE

Résultats expérimentaux

Pour présenter le résultat de nos recherches, nous suivrons un plan uniforme.

Pour chaque cobaye, nous donnerons d'abord les valeurs successives du pouvoir lipasique du sérum pendant sa vie, d'un côté par rapport au sérum normal moyen que nous appellerons sérum *étalon*, et de l'autre par rapport à sa valeur *initiale* avant toute intervention. Nous aurons ainsi deux séries de nombres correspondant à *P. L/étalon* et *P. L/initial*, parallèlement à la série *Carbonate N/10* où seront indiqués les volumes de la liqueur décinormale de carbonate de soude.

Nous continuerons par la description des manifestations pathologiques apparues chez le cobaye et nous relaterons l'essentiel des observations faites à son autopsie.

Nous donnerons ensuite les valeurs du pouvoir lipasique du foie, de la rate, des poumons et des ganglions, d'une part comparativement à celui (appelé *témoin*) des mêmes organes chez les animaux sains, et d'autre part comparativement à celui du *sérum* de l'animal le jour où

il a été sacrifié. Nous aurons ainsi pour chaque organe deux nombres correspondant à *P. L./témoin* et *P. L./sérum*.

Enfin nous indiquerons les résultats des recherches faites par différents auteurs sur le même sujet, et nous les comparerons aux nôtres.

Voici à titre d'exemple l'observation de l'un des cobayes sains examinés et dont nous avons déjà reproduit les graphiques dans le chapitre IV.

Cobaye n° . — Mâle ; sain.

<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L./étalon</i>	<i>P. L./initial</i>	<i>Carbonate N/10</i>
1	430 gr.	—	—	—
13	425	1,13	1	—
38	509	1,63	1,45	0 cm ³ 88
50	529	1,63	1,45	1,08
65	540	1,76	1,56	1,22
(mort) 248	646	1,13	1	0,97

Cet animal bien portant a été sacrifié.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périsvécéral abondant.

Ganglions, foie, rate, poumons : normaux.

	<i>P. L./témoin</i>	<i>P. L./sérum</i>
Foie. . . .	1,15	3
Rate. . . .	0,87	0,52
Poumons . .	0,96	0,57
Ganglions. .	0,97	0,61

Nous constatons que le pouvoir lipasique du sang est resté relativement constant pendant les 248 jours d'observation, ou du moins que, s'il a augmenté parfois pour des causes indéterminées, il n'est jamais descendu au-dessous de sa valeur initiale.

Tous ces renseignements seront rassemblés en deux

chapitres : dans l'un se trouveront les renseignements se rapportant au rôle du bacille de Koch dans les variations du pouvoir lipasique *in vivo*, et dans l'autre ceux qui ont trait à l'influence des injections d'huile d'olive ou d'huile de foie de morue sur les variations de ce même pouvoir lipasique.

CHAPITRE V

INFLUENCE DU BACILLE TUBERCULEUX ET DE SES EXTRAITS SUR LE POUVOIR LIPASIQUE

SOMMAIRE. — *Cobayes inoculés avec des bacilles de Koch vivants ; avec des bacilles de Koch tués à + 115° ; avec du bouillon de culture filtré ou avec de la tuberculine. Conclusion.*

Cobayes inoculés avec des bacilles de Koch vivants.

Chez les cobayes atteints de tuberculose expérimentale, le pouvoir lipasique du sang et des organes est-il diminué comme chez les hommes tuberculeux ?

C'est à cette question que répondent les deux observations suivantes :

Cobaye n° 1. — Mâle. Inoculation conjonctivale (à droite) de bacilles vivants.

	Jours	Poids	P.L./étalon	P.L./initial	Carbonate N/10
(inoculation)	1	453 gr.	—	—	—
	35	532	1,28	—	0 cm ³ 71
	47	560	0,73	—	0,91
	59	590	0,96	—	0,80
(mort)	103	605	0,57	—	(sang hémolysé)

Remarque. — A cause d'un accident, les mesures du pouvoir lipasique faites le premier jour ont perdu toute valeur, et par suite nous n'avons pu connaître les variations de *P. L./initial*.

L'infection tuberculeuse de ce cobaye a suivi l'évolution décrite par CALMETTE (rappelée dans le chapitre III). Le cobaye a été sacrifié à l'agonie.

Autopsie. — Les ganglions inguinaux, axillaires, cervicaux, sous-maxillaires, de la grosseur d'un haricot, sont remplis de matière caséuse ; il en est de même des ganglions périportaux et trachéobronchiques ; les ganglions iliaques et mésentériques sont à peine tuméfiés.

Dans le péritoine, liquide citrin ; le foie augmenté de volume et la rate à peu près normale portent quelques tubercules.

Dans la plèvre, liquide citrin ; sur le lobe inférieur des poumons quelques tubercules caséifiés, superficiels, formant, en se vidant, de petites cavernes.

	<i>P. L./témoin</i>	<i>P. L./sérum</i>
	—	—
Foie. . . .	1,75	10,5
Rate. . . .	0,61	0,64
Poumons . .	0,84	1,46
Ganglions. .	0,63	0,75

Cobaye n° 2. — Mâle. Inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles vivants*.

	Jours	Poids	<i>P. L./étalon</i>	<i>P. L./initial</i>	Carbonate N/40
	—	—	—	—	—
(inoculation)	1	535 gr.	—	—	—
	30	705	0,66	—	0 cm ³ 85
	42	735	0,72	—	0,69
	59	755	0,65	—	0,60
(mort)	120	612	0,35	—	(sang hémolysé)

Même remarque que pour le cobaye n° 1 au sujet des variations de *P. L/initial*, et même évolution de la maladie. L'animal a été sacrifié à l'agonie.

Autopsie. — Les ganglions inguinal gauche sous-maxillaires, cervicaux, axillaires, trachéo bronchiques et périportaux sont de la grosseur d'un petit pois à celle d'un haricot ; le ganglion iliaque gauche est tuméfié ; un seul ganglion cervical renferme du pus caséeux.

Pas de liquide dans le péritoine ; le foie remplit la moitié de l'abdomen ; il est dur à couper et ne présente pas de tubercules caséeux. Dans la rate, qui est énorme, pas de masses caséifiées.

Pas de liquide dans les plèvres ; les poumons très compacts, ayant la consistance du tissu rénal, n'ont pas de tubercules.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
	—	—
Foie. . . .	0,59	5,72
Rate. . . .	0,87	1,41
Poumons . .	0,70	1,23
Ganglions. .	0,38	0,70

Ces 2 cobayes ont survécu le même temps (à 17 jours près) à leur inoculation ; pendant cette durée de leur vie leur poids n'a pas diminué, tandis que le *P. L/étalon* de leur sang est tombé à la moitié de sa valeur.

D'autre part le *P. L/témoin* des organes a baissé d'une manière irrégulière ; il n'a augmenté que pour le foie du cobaye n° 1. Quand au *P. L/sérum* nous constatons, en le comparant aux valeurs données dans le chapitre I pour les cobayes normaux, qu'il a augmenté pour tous les organes ; mais ce n'est qu'une apparence, puisque nous avons vu que le pouvoir lipasique du sérum avait diminué de moitié.

En résumé, nous avons constaté que par le fait de la tuberculose expérimentale le pouvoir lipasique du sérum san-

guin, de la rate, des poumons et des ganglions diminue ; seul le pouvoir lipasique du foie semble résister.

Comme nous, POULAIN (8) avait déjà décelé une diminution considérable de l'activité lipasique des ganglions au cours des infections expérimentales. CLERC (18) ensuite a tuberculisé 3 lapins et 3 chiens qui ont survécu de trois semaines à un mois ; dans tous les cas (surtout chez les lapins), il a constaté un abaissement du pouvoir lipasique du sang parallèlement aux progrès de la cachexie.

Expérimentalement chez les animaux infectés, GRINEW citée par CALMETTE (19. p. 158) est arrivée aux conclusions suivantes :

« La diminution de la lipase dans la tuberculose chronique est très grande. Dans presque tous les organes elle descend à la moitié de la quantité initiale. Dans le cœur et dans la rate, cette diminution est moindre, mais dans le foie elle atteint presque 60 %. Les tissus du foie et du poumon sont les plus atteints par la toxine tuberculeuse ».

Ces diminutions correspondent à des valeurs que nous avons représentées par *P. L/témoin* dans nos recherches ; or, nous avons vu que le poumon et surtout le foie ont un pouvoir lipasique diminué il est vrai, mais moins diminué que celui des autres organes. Pour expliquer cette différence entre les conclusions de GRINEW et les nôtres, il faudrait connaître la méthode de dosage employée par cet auteur ; il faudrait savoir s'il a lavé les pulpes d'organes pour les débarrasser du sérum sanguin, ce qui, nous l'avons dit, présente l'inconvénient de détruire une partie de la lipase.

Quoi qu'il en soit nous sommes d'accord avec tous

les expérimentateurs : l'infection tuberculeuse expérimentale provoque chez le cobaye une diminution du pouvoir lipasique absolument comparable à celle qu'on a décelée chez l'homme tuberculeux.

Cobayes inoculés avec des bacilles tués à + 115°

Ce point étant établi, nous avons cherché à savoir *si des bacilles morts provoqueraient la même diminution du pouvoir lipasique.*

Dans ce but, nous avons inoculé à des cobayes, soit par voie conjonctivale soit par voie sous-cutanée, la même quantité de bacilles de Koch tués par chauffage à l'autoclave à + 115°.

Cobaye n° 3. — Femelle. — Inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles tués*.

	Jours	Poids	P. L/étalon	P. L/initial	Carbonate N/10
(inoculation)	1	435 gr.	0,44	1	0 cm ³ 81
	23	500	0,83	1,89	1,01
	77	525	0,71	1,61	0,84
	107	622	(nouvelle inoculation)		
(mort)	290	675	0,76	1,79	0,84

Après la 2^e inoculation, petits ganglions sous-maxillaires perceptibles à droite. Ce cobaye bien portant a été sacrifié.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périviscéral abondant.

Ganglions cervicaux et sous-maxillaires normaux sauf un ganglion cervical droit ; du volume d'un gros grain de riz, renferme, dans une coque fibreuse très dure, une masse vacuolaire blanche presque solide. Les ganglions trachéo-

bronchiques sont gros comme des grains de blé ; les autres sont normaux.

Foie, rate, poumons : normaux.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
	—	—
Foie.	1,75	6,5
Rate.	0,75	0,50
Poumons . . .	0,81	0,62
Ganglions. . .	0,52	0,40

Cobaye n° 4. — Femelle. — Inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles tués*.

	Jours	Poids	P.L/étalon	P.L/initial	Carbonate N/10
	—	—	—	—	—
(inoculation) 1	467 gr.	0,96	1	0 cm ³ 99	
23	462	1,05	1,10	0,96	
85	545	0,82	0,86	1,33	
105	620	(nouvelle inoculation)			
(mort)	284	750	1,53	1,61	1,18

Après la deuxième inoculation, petits ganglions sous-maxillaires perceptibles à droite. L'animal bien portant a été sacrifié.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périviscéral abondant.

Les ganglions sous-maxillaires sont un peu plus gros à droite qu'à gauche ; tous les autres ganglions sont normaux.

Foie, rate, poumons : normaux.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
	—	—
Foie	1,75	5,30
Rate	0,93	0,49
Poumons . . .	0,74	0,42
Ganglions. . .	0,59	0,38

Cobaye n° 5. — Femelle. — Inoculation sous-cutanée (à droite) de *bacilles tués*.

	Jours	Poids	P. L/étalon	P. L/initial	Carbonate N/10
(inoculation)	1	610 gr.	0,73	1	0 cm ³ 96
	27	745	1,03	1,42	1,09
	76	755	0,80	1,11	0 90
	103	860	(nouvelle inoculation)		
(mort)	285	970	0,83	1,16	0,81

Après la seconde inoculation, gros empatement à la face interne de la racine de la cuisse que l'animal maintient immobilisée. Peu à peu cette patte retrouve sa souplesse, mais une masse indurée, grosse comme une noisette, persiste à la racine de la cuisse droite. L'animal bien portant a été sacrifié.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périviscéral très abondant. Dans l'aîne droite, au point d'inoculation, volumineux abcès caséeux.

Les ganglions sont petits, sauf les ganglions iliaques gros comme des lentilles et les trachéo-bronchiques gros comme des grains de blé ; aucun n'est caséifié.

Foie, rate, poumons : normaux.

	P. L/témoin	P. L/sérum
Foie . . .	1,75	7,75
Rate . . .	0,65	0,50
Poumons . .	0,65	0,54
Ganglions. .	0,52	0,46

Cobaye n° 6. — Femelle. — Inoculation sous-cutanée (à droite) de *bacilles tués*.

	Jours	Poids	P. L/étalon	P. L/initial	Carbonate N/10
(inoculation)	1	677 gr.	0,67	1	0 cm ³ 81
	25	749	0,79	1,18	1,14
	74	759	0,70	1,05	1,03
	101	790	(nouvelle inoculation)		
(mort)	282	885	0,92	1,38	0,76

Après la 2^e inoculation, gros empâtement de la face interne et de la racine de la cuisse qui reste rigide ; peu à peu l'empâtement disparaît, la patte redevient souple. L'animal bien portant est sacrifié.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périsvical abondant ; pas de ganglion dans l'aîne droite.

Les ganglions sont petits, sauf les iliaques et les trachéo-bronchiques qui ont la grosseur d'un grain de blé.

Foie, rate, poumons : normaux.

	<i>P. L./témoin</i>	<i>P. L./sérum</i>
Foie . . .	1	4,17
Rate . . .	1,15	0,84
Poumons . .	0,83	0,65
Ganglions. .	0,81	0,65

A la lecture de ces quatre observations de cobayes inoculés par voie conjonctivale ou par voie sous-cutanée avec des bacilles tués par chauffage à l'autoclave à + 115°, nous constatons que le pouvoir lipasique du sang n'a jamais diminué que nous considérions la série *P. L./étalon* ou la série *P. L./initial*.

Quant aux organes, le pouvoir lipasique du foie a nettement augmenté, tandis qu'il a très peu varié dans la rate et les poumons ; dans les ganglions, il a même une légère tendance à diminuer.

En résumé, d'après nos expériences l'inoculation à des cobayes de bacilles tués à + 115° ne diminue pas leur pouvoir lipasique.

Cependant NINA KOTSCHNEFF (*citée* par CALMETTE (19) p. 458) déclare que les injections de bacilles tuberculeux tués déterminent un abaissement du pouvoir lipasique et une augmentation du pouvoir antitryptique du sé-

rum chez les cobayes et les lapins. Nous n'avons constaté cet abaissement du pouvoir lipasique que lorsque nous injectons à doses massives, par voie sous-cutanée, des bacilles de Koch tués par l'ébullition. Les animaux présentaient alors un abcès localisé, sans retentissement ganglionnaire et des accidents d'intoxication lente aboutissant en plusieurs mois à la cachexie et à la mort: leur pouvoir lipasique sanguin était alors abaissé comme chez tous les cachectiques.

Cobayes inoculés avec du bouillon de culture filtré ou avec de la tuberculine.

D'après nos observations précédentes, l'abaissement du pouvoir lipasique chez les cobayes ne coexiste qu'avec la présence dans leur organisme de bacilles de Koch vivants, se développant pour donner une tuberculose expérimentale typique. *Ces bacilles vivants agissent-ils par des substances diffusibles que nous pourrions injecter soit par un filtrat soit par la tuberculine?*

Cobaye n° 7. — Femelle. Inoculations de *filtrat* par voie sous-cutanée, puis par voie intra-péritonéale.

Jours	Poids	P. L/étalon	P. L/initial	Carbonate N/10
1	755 gr.	1	1	0 cm ³ 89
28	660	0,79	0,79	0,89
(mort) 275	787	1,24	1,23	0,73

Pendant la durée de l'expérience, ce cobaye a reçu en tout 190 cm³ de filtrat et n'a présenté aucun trouble pathologique. Il a été sacrifié bien portant.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et péri-viscéral abondant.

Les ganglions sont petits, difficiles à isoler.

Foie, rate, poumons : normaux.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie. . . .	1	2,92
Rate. . . .	1,33	0,67
Poumons . .	1,07	0,59
Ganglions. .	0,38	0,22

Cobaye n° 8. — Inoculation de *filtrat* par voie sous-cutanée, puis par voie intrapéritonéale.

<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	<i>Carbonate N/10</i>
1	605 gr.	1,03	1	0 cm ³ 90
28	626	1,38	1,34	1,21
(mort) 54	585	1,10	1,03	(sang hémolysé)

Ce cobaye a reçu en tout 47 cm³ de filtrat ; il était bien portant, mais un matin nous l'avons trouvé immobile dans sa cage, les poils hérissés ; immédiatement nous l'avons sacrifié.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périviscéral abondant.

Les ganglions sont petits, difficiles à isoler.

Liquide citrin dans le péritoine et dans les plèvres.

Foie, rate : normaux. Poumons congestionnés.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie. . . .	1,17	3,05
Rate. . . .	1,05	0,48
Poumons . .	0,58	0,29
Ganglions. .	0,50	0,26

Cobaye n° 9. — Mâle. Inoculation sous-cutanée de *tuberculine*.

<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	<i>Carbonate N 40</i>
—	—	—	—	—
1	710 gr.	1,83	1	1 cm ³ 13
24	725	0,96	0,52	0,98
48	720	1,57	0,86	1,30
(mort) 115	740	1,38	0,75	1,17

Pendant toute la durée de l'expérience, ce cobaye a reçu en tout 14 cm³ de tuberculine brute pour usage vétérinaire ; il n'a présenté aucun trouble et a été sacrifié en bonne santé.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périsvécéral normal.

Foie, rate, poumons, ganglions : normaux.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
—	—	—
Foie. . . .	1	2,34
Rate. . . .	0,93	0,37
Poumons . .	1,23	0,53
Ganglions. .	1,19	0,56

Cobaye n° 10. — Mâle. Inoculation sous-cutanée de *tuberculine*.

<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	<i>Carbonate N/10</i>
—	—	—	—	—
1	667 gr.	1,78	1	1 cm ³ 09
24	697	1,47	0,88	0,96
48	675	1,57	0,93	1,48
(mort) 114	759	1,13	0,67	1,48

Pendant la durée de l'expérience, ce cobaye a reçu en tout 14 cm³ de tuberculine brute pour usage vétérinaire ; il n'a présenté aucun trouble et a été sacrifié en bonne santé.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périviscéral abondant.

Foie, rate, poumons, ganglions : normaux.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie. . . .	1,40	3,25
Rate. . . .	1,05	0 53
Poumons . .	1,19	0,64
Ganglions. .	0,73	0,42

A la lecture de ces quatre observations, nous constatons que ces cobayes qui, avant toute intervention, avaient un pouvoir lipasique sanguin particulièrement élevé, l'ont conservé sans fléchissement à ce niveau malgré les doses importantes de filtrat ou de tuberculine qui leur ont été injectées.

Quant au pouvoir lipasique des organes, il est resté lui aussi très élevé pour le foie, la rate et les poumons ; pour les ganglions seulement il s'est abaissé, et cette diminution du pouvoir lipasique a été plus marquée chez les cobayes inoculés avec du filtrat que chez ceux qui avaient reçu de la tuberculine.

Nous n'avons pas découvert dans la littérature scientifique de travaux publiés sur ce sujet.

Les auteurs ont signalé que des cobayes sains peuvent supporter impunément des doses considérables de filtrat ou de tuberculine ; c'est exactement ce que nous avons pu constater au cours de nos expériences.

Conclusion.

De cette série de recherches nous pouvons tirer ces conclusions ;

Le pouvoir lipasique du sérum sanguin, de la rate, des poumons et des ganglions diminue chez les cobayes atteints de tuberculose expérimentale.

Cette diminution est liée à la présence de bacilles de Kock vivants dans l'organisme du cobaye, puisqu'elle ne se produit pas chez des cobayes inoculés soit avec des bacilles tués par chauffage à $+ 115^{\circ}$ soit avec des extraits de bacilles tuberculeux (filtrat ou tuberculine).

A partir de ces faits d'observation, il est impossible d'aller plus avant dans la compréhension de ce phénomène.

CHAPITRE VI

INFLUENCE DES INJECTIONS D'HUILE ÉTHÉRÉE SUR LE POUVOIR LIPASIQUE

SOMMAIRE. — *Essai de relèvement du pouvoir lipasique des cobayes tuberculeux par des injections d'huile éthérée ; même essai sur des cobayes sains ; ces cobayes sains ont-ils par ces injections acquis une certaine résistance à l'infection tuberculeuse ? Conclusion.*

Essai de relèvement du pouvoir lipasique des cobayes tuberculeux.

Pour commencer nous avons essayé de relever le pouvoir lipasique chez des cobayes tuberculeux, en provoquant par des injections d'huile la formation de *lipases de défense*.

Cobaye n° 11. — Mâle. Inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles vivants* ; dès l'apparition de la tuméfaction ganglionnaire (18^e jour), injections d'huile d'olive éthérée.

	Jours	Poids	P. L/étalon	P. L/initial	Carbonate N/10
(inoculation)	1	574 gr.	0,96	1	
	18	630	début de la série d'injections d'huile		
	30	614	0,96	1,01	0 cm ³ 72
	41	625	1,13	1 18	0,76
	57	595	1,07	1,12	0,78
(mort)	92	530	0,37	0,38	(sang hémolysé)

L'évolution de la tuberculose chez ce cobaye fut la même que chez les cobayes (1 et 2) non traités. Ce cobaye a été sacrifié à l'agonie.

Autopsie. — Le tissu adipeux sous-cutané et périviscéral a presque complètement disparu.

Le foie et la rate considérablement augmentés de volume remplissent tout l'abdomen et sont farcis de très nombreux tubercules caséifiés ; liquide citrin dans le péritoine ; les ganglions périportaux, mésentériques, iliaques sont très gros et très durs.

Les poumons sont farcis de tubercules ; les ganglions trachéo-bronchiques gros comme des pois ne sont pas caséeux mais très durs. La plupart des ganglions cervicaux et sous-maxillaires perceptibles pendant la vie sont caséeux.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
	—	—
Foie . . .	1,75	6
Rate. . . .	0,87	1,30
Poumons . .	0,66	1,07
Ganglions . .	0,87	1,50

Cobaye n° 12. — Femelle. Inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles vivants* ; dès l'apparition de la tuméfaction ganglionnaire (18^e jour) injections d'huile d'olive éthérée.

	<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	<i>Carbonate N/10</i>
	—	—	—	—	—
(inoculation)	1	730 gr.	1,60	1	—
	18	685	début de la série d'injections		d'huile
	29	685	0,68	0,44	0 cm ³ 69
	42	760	0,72	0,46	0,57
(mort)	54	775	0,41	0,26	0,55

L'animal a présenté les mêmes signes d'évolution tuberculeuse que le précédent, mais en plus une gêne respiratoire (tirage) très intense. C'est probablement ce qui explique sa mort brusque au moment d'une ponction cardiaque.

Autopsie. — Tissu adipeux sous-cutané et périsvécéral assez abondant.

Les ganglions sous-maxillaires, cervicaux, sont de la grosseur d'un haricot ; les ganglions trachéo-bronchiques de celle d'un petit pois ; les ganglions portaux, iliaques et mésentériques sont eux aussi augmentés de volume. Tous ces ganglions ont une masse centrale, plus ou moins grosse, caséifiée.

Présence de tubercules sur les poumons, surtout sur le droit. Liquide citrin dans le péricitone. Le foie et la rate, très gros, portent de très nombreux tubercules caséifiés.

L'utérus contient deux fœtus.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie . . .	0,55	4,55
Rate . . .	0,85	1,20
Poumons . .	0,52	0,80
Ganglions. .	0,33	0,52

Cobaye n° 13. — Femelle. Inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles vivants* ; dès l'apparition de la tuméfaction ganglionnaire (21^e jour), injections d'*huile de foie de morue étherée*.

	<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	<i>Carbonate N/10</i>
(inoculation)	1	550 gr.	—	—	—
	21	575	début de la	série d'injections	d'huile
	31	642	0,55	—	0 cm ³ 86
	43	560	0,92	—	0,73
	56	590	0,74	—	0,73
(mort)	153	419	0,32	—	(sang hémolysé)

A cause d'un accident, les mesures du pouvoir lipasique faites le premier jour ont perdu toute valeur, et par suite nous n'avons pu connaître les variations du *P. L/initial*.

L'évolution tuberculeuse a été la même que chez les cobayes (1 et 2) inoculés, mais non traités. Aux points d'injec-

tion de l'huile de foie de morue, on percevait des nodosités plus ou moins grosses. L'animal a été sacrifié à l'agonie.

Autopsie. -- Dans le tissu cellulaire sous-cutané, aux points d'injection de l'huile, se trouvent des amas caséeux de couleur jaune d'ocre ; tout autour le tissu est rougeâtre, les vaisseaux dilatés.

Pas de liquide dans le péritoine, ni dans les plèvres.

Les ganglions sous-maxillaires et cervicaux ne sont pas très gros ; quelques-uns, caséifiés, ont une coque dure difficile à couper ; les ganglions trachéo-bronchiques, périportaux, mésentériques, iliaques, sont gros, non caséifiés, durs, difficiles à couper.

Sur les poumons les tubercules sont rares ; sur la rate, peu augmentée de volume, pas de tubercules ; le foie, un peu augmenté de volume, présente à sa surface une quinzaine de tubercules caséeux.

	P. L/témoin	P. L/initial
Foie . . .	0,50	5,5
Rate . . .	0,46	0,88
Poumons .	0,42	0,86
Ganglions .	0,47	1,02

Cobaye n° 14. — Femelle. Inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles vivants* ; dès l'apparition de la tuméfaction ganglionnaire (19^e jour) injections d'huile de foie de morue étherée.

Jours	Poids	P. L/étalon	P. L/initial	Carbonate N/10
(inoculation) 1	655 gr.	—	—	—
19	660	début des injections d'huile		
30	652	0,88	—	0 cm ³ 82
46	650	0,96	—	0,82
60	652	0,83	—	0,79
(mort) 72	672	0,69	—	0,71

Mêmes remarques que pour le cobaye n° 13 au sujet de *P. L/initial* et de l'évolution de la maladie. L'animal a été sacrifié à l'agonie.

Autopsie. — Dans le tissu cellulaire sous-cutané, aux points d'injection de l'huile, se trouvent des amas caséeux de couleur jaune d'ocre.

Les ganglions sous-maxillaires et cervicaux sont énormes (de la grosseur d'un pois à celle d'un haricot) ; ils sont caséifiés au centre. Les ganglions iliaques sont un peu gros ; les ganglions mésentériques et périportaux sont gros comme des pois, très durs et non caséifiés.

Pas de liquide dans la plèvre ; sur les poumons quelques rares granulations ; les ganglions trachéo-bronchiques sont énormes, presque aussi gros qu'un lobe pulmonaire.

Le foie est augmenté de volume avec quelques tubercules non caséifiés ; la rate n'est pas augmentée de volume et ne présente que de rares tubercules.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie. . . .	0,50	2,32
Rate. . . .	0,49	0,39
Poumons . .	0,26	0,22
Ganglions. .	0,31	0,28

De la lecture de ces quatre observations nous pouvons conclure que les injections sous-cutanées d'huile éthérée n'ont modifié ni la durée ni l'aspect symptomatique de la tuberculose expérimentale des cobayes inoculés avec des bacilles vivants par la voie conjonctivale.

Ces injections n'ont pas davantage empêché la chute du pouvoir lipasique du sang ; cependant chez le cobaye n° 14 elle a été peu marquée.

Enfin ces injections n'ont pas empêché la chute de *P. L/témoin* du foie, de la rate, des poumons et des

ganglions ; il semble néanmoins que le cobaye n° 11 ait été plus résistant à ce point de vue. Si le *P. L/sérum* de ces organes semble au contraire plus élevé, ce n'est qu'une apparence due à ce fait que le pouvoir lipasique du sérum s'est abaissé ; cependant le *P. L/sérum* du foie est celui qui résiste le mieux.

En résumé chez des cobayes, inoculés par voie conjonctivale avec des bacilles vivants, la tuberculose évolue et le pouvoir lipasique s'abaisse, les injections d'huile éthérée n'apportant à cela aucune modification nette.

Essai de relèvement du pouvoir lipasique des cobayes sains.

En présence de ces résultats défavorables, nous nous sommes demandé si ces injections, débutant seulement après l'apparition de la tuméfaction ganglionnaire, n'avaient pas été trop tardives. Aussi avons-nous recommencé, en faisant des injections d'huile éthérée à des cobayes sains pour essayer d'augmenter au préalable leur pouvoir lipasique.

Cobaye n° 15. — Femelle. Saine. Injections d'huile d'olive éthérée.

<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	<i>Carbonate N/10</i>
—	—	—	—	—
1	570 gr.	1,33	1	—
26	549	0,75	0,56	0 cm ³ 74
38	597	1,22	0 92	0,92
55	569	1,33	1	1,21
73	525	0,78	0,58	0,77
(mort) 382	725	0,97	0,77	0,88

Pendant toute la durée de l'expérience, le cobaye est resté bien portant ; il a présenté quelques nodosités aux points d'injection, mais elles ont disparu sans avoir suppuré. Il a été sacrifié en bonne santé.

Autopsie. — Le tissu cellulaire sous-cutané est très fibreux aux points où ont été faites les injections. Il renferme peu de graisse ; le tissu adipeux périviscéral est abondant ;

Les ganglions sont petits, sauf les trachéo-bronchiques.

Foie, rate, poumons : normaux.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie. . . .	1,25	6,25
Rate. . . .	0,68	0,43
Poumons . .	0,92	0,62
Ganglions. .	0,90	0,69

Cobaye n° 16. — Femelle. Saine ; injections d'huile de foie de morue éthérée.

Jours	Poids	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	Carbonate N/10
—	—	—	—	—
1	512 gr.	1,17	1	—
26	581	0 98	0,63	0 cm ³ 80
36	590	1,13	0,72	0,81
50	617	0,82	0,52	0,77
75	582	0,82	0,55	0,93
(mort) 392	685	0,95	0,60	0,66

En plusieurs des points d'injection d'huile ont apparu des nodosités, qui ont ensuite suppuré ; mais au moment où l'animal a été sacrifié toutes les plaies étaient cicatrisées.

Autopsie. — Le tissu adipeux sous-cutané est de place en place d'une couleur jaune d'ocre ; il est abondant ainsi que le tissu adipeux périviscéral.

Ganglions, foie, poumons, rate ; normaux,

L'utérus contient 2 fœtus,

	<i>P.L/témoin</i>	<i>P.L/sérum</i>
Foie. . . .	1	3,91
Rate. . . .	0,59	0,39
Poumons . .	0,76	0,56
Ganglions. .	4,37	3,37

A la lecture de ces deux observations, nous constatons que les injections d'huile éthérée n'ont pas augmenté le pouvoir lipasique du sérum des cobayes sains ; néanmoins ce pouvoir lipasique s'est maintenu à son niveau élevé.

Par contre les valeurs de *P. L/témoin* sont élevées et de *P. L/sérum* sont augmentées pour tous les organes sauf la rate ; l'augmentation est très nette pour le foie surtout sous l'influence des injections d'huile d'olive éthérée. Les injections d'huile de foie de morue éthérée ont une action moindre, sauf pour les ganglions dont elles ont augmenté, considérablement les valeurs de *P. L/témoin* et *P. L/sérum*.

Ces cobayes sains ont-ils, par ces injections, acquis une certaine résistance à l'infection tuberculeuse.

Ayant constaté cette action favorable des injections d'huile éthérée sur le pouvoir lipasique des organes de cobaye sain, nous nous sommes demandé si des animaux ainsi traités avaient acquis une certaine résistance contre l'infection tuberculeuse expérimentale.

Pour le vérifier, au bout de onze semaines de traitement préventif, nous leur avons inoculé, par voie conjonctivale, des bacilles vivants, tout en continuant les injections d'huile éthérée,

Cobaye n° 17. — Femelle. Injections d'huile d'olive éthérée, puis inoculation conjonctivale (à droite) de bacilles vivants.

Jours	Poids	P. L/étalon	P. L/initial	Carbonate N/40
1	685 gr.	1,22	1	—
27	724	0,71	0,77	0 cm ³ 73
38	824	0,71	0,77	0,75
55	870	0,53	0,65	0,71
60	920			
64	670	(après avoir fait 4 petits)		
72	679	0,94	0,82	0,89
77	714	inoculation conjonctivale		
105	569	0,61	0,70	0,72
(mort) 173	724	0,55	0,39	(sang hémolysé)

Les injections d'huile éthérée ont provoqué des nodosités, disparues ensuite sans avoir suppuré. Il est intéressant de remarquer que les valeurs de *P. L/étalon*, qui s'abaissaient peu à peu, se sont relevées brusquement après la parturition.

La tuméfaction des ganglions cervicaux droits est apparue 17 jours après l'inoculation conjonctivale, c'est à-dire dans le même temps que chez les animaux non traités préventivement ; puis l'évolution de la tuberculose s'est faite comme chez ces derniers et avec la même durée (96 jours). Le cobaye a été sacrifié à l'agonie.

Autopsie. — Le tissu adipeux sous-cutané et périviscéral est assez abondant.

Les ganglions sous-maxillaires et cervicaux sont gros comme des lentilles, quelques-uns comme des noisettes ; ces derniers contiennent du pus caséux. Les ganglions trachéo-bronchiques sont gros comme des pois, ainsi qu'un ganglion périportal et les ganglions iliaques.

Le foie peu hypertrophié présente quelques tubercules ;

la rate très grosse en est farcie ; quelques tubercules à la surface des poumons.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie . . .	1	5,08
Rate . . .	0,78	0,74
Poumons. .	0,69	0,71
Ganglions .	0,55	0,60

Cobaye n° 18. — Femelle. Injections d'*huile de foie de morue éthérée* puis inoculation conjonctivale (à droite) de *bacilles vivants*.

<i>Jours</i>	<i>Poids</i>	<i>P. L/étalon</i>	<i>P. L/initial</i>	<i>Carbonate N/40</i>
1	607 gr.	1,26	1	—
29	610	1,25	0 65	0 cm ³ 94
37	622	1,22	0,59	0,84
51	652	0,70	0,32	0,83
76	629	1,19	0,57	1,04
79	682	(inoculation conjonctivale)		
107	630	1,16	0,53	0,92
(mort)	178	482	0,45	0,21
				0,41

Les nodosités abdominales, apparues aux points d'injections, ont suppuré (pus caséeux jaunâtre), puis les plaies se sont cicatrisées

La tuméfaction ganglionnaire sous-maxillaire droite est apparue 20 jours après l'inoculation conjonctivale ; la tuberculose a évolué en 99 jours. Le cobaye a été sacrifié à l'agonie.

Autopsie. — Le tissu cellulaire sous-cutané présente des amas caséeux, de couleur jaune d'ocre, aux points d'injection de l'huile ; très peu de graisse dans ce tissu ainsi qu'autour des viscères.

Les ganglions sous maxillaires et cervicaux sont gros, quelquefois même aussi gros que des noisettes ; l'un d'eux est caséifié au centre. Les ganglions trachéo-bronchiques,

périportaux, mésentériques et iliaques sont gros comme des pois et scléreux; il est très difficile de les couper.

Petite quantité de liquide citrin dans la plèvre et dans le péritoine.

Le foie énorme porte des tubercules; il en est de même de la rate; quelques tubercules sur la base des poumons.

	<i>P. L/témoin</i>	<i>P. L/sérum</i>
Foie.	1	5,8
Rate.	0,40	1,57
Poumons . . .	0,42	0,91
Ganglions. . .	0,60	1,35

Des observations n° 17 et 18, nous pouvons conclure que les injections préventives d'huile éthérée n'ont pas augmenté la résistance des cobayes à l'infection tuberculeuse. Cependant le *P. L/étalon* du sang s'était maintenu à un taux élevé, surtout pour le cobaye n° 18 qui avait reçu des injections d'huile de foie de morue.

Quant au *P. L/témoin* des organes, il est de valeur assez élevée pour le cobaye n° 17 (traité à l'huile d'olive), plus faible pour le cobaye n° 18 (traité à l'huile de foie de morue). Les valeurs de *P. L/sérum* ne sont élevées qu'en apparence, puisque le pouvoir lipasique du sérum s'est abaissé.

Conclusion

En résumé, les injections d'huile éthérée, que ce soit de l'huile d'olive ou de l'huile de foie de morue, n'augmentent pas le pouvoir lipasique du sérum des animaux sains; elles augmentent celui de tous les organes examinés, sauf de la rate; mais elles ne peuvent empêcher le pouvoir lipasique de s'abaisser ni chez les cobayes

primitivement tuberculeux ni chez ceux qui n'ont été inoculés qu'après avoir subi un traitement préventif.

Cette conclusion confirme parfaitement, comme nous allons le voir, ce qu'avaient déjà écrit CLERC d'abord, CALMETTE ensuite, sur le même sujet.

Cependant N. FIESSINGER (7, p. 179) avance qu'il est possible d'augmenter le pouvoir lipasique dans des proportions importantes. Pendant 2 mois et demi, il a traité une série de cobayes par des injections hebdomadaires de 2 centigrammes de lécithine dans un centimètre cube d'huile d'amandes douces et une autre série par des injections hebdomadaires de 0 gr. 2 de cire jaune d'abeilles dans un centimètre cube de la même huile. Il a constaté que :

« La rate des cobayes lécithinés présentait une activité lipasique plus élevée que celle des cobayes traités par la cire, et ceux-ci une activité lipasique plus marquée que celle des cobayes témoins. »

En nous reportant à nos observations du n° 11 au n° 18, nous constatons que, dans aucun cas, malgré les injections d'huile, le pouvoir lipasique de la rate n'a été plus élevé que chez les animaux témoins. Il est vrai que nous n'avons injecté ni lécithine ni cire ; mais CALMETTE (19, pp. 458-459) déclare que toutes les tentatives qu'il a faites pour augmenter le pouvoir lipasique par des injections de lécithine ou de cire ont été infructueuses.

D'autre part CLERC (18, p. 68) a lui aussi essayé de renforcer l'activité lipasique du sérum :

« Chez un lapin nous avons pratiqué des injections répétées de lait dans la cavité péritonéale ; chez un autre nous avons

injecté dans les mêmes circonstances de l'huile stérilisée.

Dans ces 2 cas, nos tentatives sont restées infructueuses et l'activité lipasique n'a pas été modifiée ».

Enfin nous sommes complètement d'accord avec CALMETTE (19) lorsqu'il écrit (p. 458) :

« On arrive bien, par des injections graduées de monobuty-
rine ou de graisses neutres, à accroître sensiblement la
teneur du sérum en monobutyrylase ou en lipase, mais les
animaux neufs, ou déjà tuberculeux, traités par des huiles
d'origine animale (huile de pied de bœuf et huile de foie de
morue par exemple) par la lécithine ou d'autres lipoides, ne
présentent pas une résistance plus grande à l'infection tuber-
culeuse que les témoins ».

CONCLUSIONS

1° Comme dans la tuberculose humaine, le pouvoir lipasique du sérum est considérablement diminué dans la tuberculose expérimentale du cobaye ; dans cette dernière, le pouvoir lipasique de la rate, des poumons et des ganglions est lui aussi très diminué, tandis que celui du foie semble résister mieux à cette altération.

2° L'inoculation à des cobayes de bacilles tués, par chauffage à $+ 115^{\circ}$ dans l'autoclave pendant dix minutes, ne diminue pas leur pouvoir lipasique, que cette inoculation soit faite par voie conjonctivale ou par voie sous-cutanée.

3° L'inoculation, même à doses considérables, soit de filtrat de culture de bacilles de Koch sur bouillon soit de tuberculine brute, ne fait pas baisser le pouvoir lipasique du sang, du foie, de la rate et des poumons des cobayes ; seul le pouvoir lipasique des ganglions s'abaisse et cette diminution est plus marquée chez les cobayes inoculés avec du filtrat que chez ceux qui ont reçu de la tuberculine.

4° Les injections sous-cutanées soit d'huile d'olive éthérée soit d'huile de foie de morue éthérée, faites à des cobayes préalablement inoculés avec des bacilles de Koch par voie conjonctivale, n'empêchent ni l'évolution de la tuberculose chez ces animaux ni l'abaissement de leur pouvoir lipasique.

5° Les injections sous-cutanées de ces mêmes huiles éthérées, faites à des cobayes sains, ne provoquent pas une élévation du pouvoir lipasique sanguin de ces animaux.

Par contre le pouvoir lipasique du foie surtout, des poumons et des ganglions s'élève, tandis que celui de la rate ne change pas. L'action de l'huile de foie de morue éthérée est particulièrement efficace sur l'augmentation du pouvoir lipasique des ganglions.

6° Chez les cobayes traités d'abord par des injections d'huile d'olive éthérée ou d'huile de foie de morue éthérée puis inoculés par voie conjonctivale avec des bacilles de Koch, l'évolution de la tuberculose est exactement la même, par ses symptômes, sa durée et la diminution du pouvoir lipasique, que chez les cobayes qui n'ont pas reçu d'injections préventives.

Vu, le Doyen
BALTHAZARD.

Vu, le Président de la thèse,
LEMIERRE.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

Ouvrages consultés

G. BERTRAND et P. THOMAS. — *Guide pour les manipulations de Chimie Biologique*, 3^e édit. (Lib. Dunod et Pinat. Paris, 1919).

CALMETTE, NÈGRE, et BOQUET. — *Manuel technique de Microbiologie et sérologie*, 2^e édit. (Lib. Masson, Paris, 1926).

H. COLIN. — *Les Diastases (t. I. Les Hydrolases)* (Lib. Doin Paris, 1931).

E. LAMBLING. — *Précis de Biochimie* (Lib. Masson. Paris, 1921).

L. MICHAELIS. — *Manuel de techniques de physico-chimie* (Lib. Masson, Paris, 1925).

Références

1. BOURQUELOT. — *Les Ferments solubles (Diastases-Enzymes)* (Société d'Éditions scientifiques, Paris, 1896 (p. 45).

2. CLAUDE BERNARD. — *Leçons de physiologie expérimentale* (t. II, p. 263).

3. DUCLAUX. — *Sur la digestion des matières grasses et celluliques* (C. R. Acad. Sc. XCIV. 1882, p. 976).

4. NICLOUX. — *Contribution à l'étude de la saponification des corps gras* (Lib. Hermann, Paris, 1906).

5. WILSTOETTER. — *Zeitschrift für Physiologische Chemie*. Bd. 125, 93 ; Bd. 129, 1 ; Bd. 133, 229 ; Bd. 138, 216 (1923-1924).

6. HANRIOT. — *Comptes rendus Acad. des Sciences*. t. CXXIII, p. 753, 833 (1896) ; t. CXXIV, p. 235, 778 (1897) ; t. CXXXII, p. 146, 212, 842 (1901) ; t. CXXXIV, p. 1363 (1902).

7. N. FIESSINGER. — *Les ferments des leucocytes*. Lib. Masson Paris, 1923 (pp. 149-185).

8. POULAIN. — *Sur la lipase des ganglions lymphatiques à l'état normal et pathologique* (Soc. Biol. 1901).

9. KASTLE et LOEWENHART. — *Concerning lipase ; the fat splitting enzyme and the reversibility of its action* (American chemical journal. Vol. XXIV, décembre 1900).

10. N. FIESSINGER et P. L. MARIE. — *La lipase des leucocytes dans les organes hématopoïétiques. La lipase des leucocytes dans les exsudats* (Soc. Biol. t. LXVII ; p. 107, 177 (1909).

11. HANRIOT et CAMUS. — *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXIII, p. 831 ; t. CXXXV, p. 235 (1897).

12. H. ROGER et L. BINET. — *Le métabolisme des graisses. Lipopexie et lipodièrese pulmonaires* (La Presse Médicale, n° 26, 1922).

13. A. GORIS. — *Constitution chimique du B. tuberculeux et milieux synthétiques de culture* (Rev. de la Tuberculose, IV, n° 3, 1923, pp. 279-297).

14. A. FONTES. — *Etudes sur la tuberculose* (Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio-de-Janeiro, avril 1909).

15. METALNIKOFF. — *L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles Galleria Mellonella* (Lib. Masson, Paris, 1927).

16. N. FIESSINGER. — *Rôle de la lipase dans la défense antibacillaire* (Rev. de la Tuberculose, n° 3, 1910, pp. 177-199).

17. PERTZOFF. — *Sur la lipase des chenilles de « Galleria Mellonella »* (C. R. Acad. Sciences, CLXXXVII, 23 juillet 1928, p. 253).

18. A. CLERC. — *Contribution à l'étude de quelques ferments solubles du sérum sanguin* (Th. Doct. Méd., Paris, 1902).

19. CALMETTE. — *L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux* (3^e édit.) (Lib. Masson, Paris, 1928)

20. GUEGUETCHKORIS. — *Le ferment lipolytique du sang, les lymphocytes et la réaction de Pirquet dans la tuberculose* (Rev. de la Tuberculose, IX, juin 1928, p. 391).

21. MARFAN. — *Clinique des maladies de la première enfance* (Lib. Masson, Paris, 1926, pp. 471-472).

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	7

PREMIÈRE PARTIE

Caractères et rôle des lipases chez les mammifères

CHAPITRE I. — <i>Les Lipases</i>	9
--	---

Les matières grasses ; saponification chimique (Chevreul) ; saponification diastasique (Cl. Bernard). — Les diverses lipases ; lipase pancréatique ; lipases des divers tissus et organes ; répartition du pouvoir lipasique dans l'organisme animal. — Lipase du bacille de Koch.

CHAPITRE II. — <i>Pouvoir lipasique et tuberculose</i>	21
--	----

Rôle des lipases ; action sur le bacille de Koch ; lipase et immunité antituberculeuse ; le pouvoir lipasique sanguin chez les tuberculeux. — Recherches sur le pouvoir lipasique des cobayes tuberculeux ; essais d'augmentation de ce pouvoir.

DEUXIÈME PARTIE

Technique expérimentale

CHAPITRE III. — <i>Préparation des animaux. — Prélèvements</i>	28
--	----

Préparation des animaux ; inoculations de bacilles de Koch vivants ; inoculations de bacilles de Koch

tués par la chaleur ; inoculations de filtrat ; inoculations de tuberculine ; injections d'huile d'olive éthérée ou d'huile de foie de morue éthérée. — *Prélèvements de sang par ponction intra-cardiaque ; prélèvements d'organes.*

CHAPITRE IV. — *La mesure du pouvoir lipasique* . . . 38

Méthode physique ; tension superficielle et compte-gouttes ; préparation d'une solution saturée de monobutyryne en milieu tampon de phosphates ; mesure de l'hydrolyse de la monobutyryne par une lipase ; établissement du diagramme temps-nombre de gouttes ; évaluation du pouvoir lipasique d'un sérum ou d'un organe ; ses variations. — Méthode chimique.

TROISIÈME PARTIE

Résultats expérimentaux

CHAPITRE V. — *Influence du bacille tuberculeux et de ses extraits sur le pouvoir lipasique* . . . 54

Cobayes inoculés avec des bacilles de Koch vivants ; avec des bacilles de Koch tués à $+115^{\circ}$; avec du bouillon de culture filtré ou avec de la tuberculine. — Conclusion.

CHAPITRE VI. — *Influence des injections d'huile éthérée sur le pouvoir lipasique* . . . 67

Essai de relèvement du pouvoir lipasique des cobayes tuberculeux par des injections d'huile éthérée ; même essai sur des cobayes sains ; ces cobayes sains ont-ils, par ces injections, acquis une certaine résistance à l'infection tuberculeuse ? — Conclusion

CONCLUSIONS. . . 81

BIBLIOGRAPHIE . . . 83

